

TESI DI DOTTORATO
ANNO ACCADEMICO 2007/2008
DOTTORATO DI RICERCA IN "IMAGING
MOLECOLARE" XXI CICLO
COORDINATORE PROF. MARCO SALVATORE

TECNICHE DI IMAGING DELLA
RETINA IN PAZIENTI
AFFETTI DA RETINOPATIA
DELLA PREMATURITA' (ROP)

Tutor
Prof. Giovanni Cennamo

Dottorando
Dott. Giovanni Marsico

INDICE

Introduzione	Pag. 2
Sviluppo della vascolarizzazione retinica	Pag. 10
Patogenesi della ROP	Pag. 18
Classificazione della ROP	Pag. 28
Aspetti clinici della ROP	Pag. 43
Screening	Pag. 46
Trattamento	Pag. 54
 SCOPO DELLO STUDIO	Pag. 64
 MATERIALI E METODI	Pag. 66
 RISULTATI	Pag. 68
 DISCUSSIONE	Pag. 71
 CONCLUSIONI	Pag. 74
 BIBLIOGRAFIA	Pag. 77

INTRODUZIONE

Secondo le ultime stime del World Health Organization (WHO) la prevalenza della cecità infantile nel mondo è pari a 1.500.000 casi, dei quali oltre il 75% può essere prevenuto e curato.¹

Nel nostro Paese, le minorazioni visive nel bambino, pur facendo registrare oggi una prevalenza ed incidenza bassa hanno, tuttavia, un impatto psico-sociale molto rilevante².

L'ipovisione che compare alla nascita o precocemente nell'infanzia crea, infatti, situazioni più complesse rispetto all'adulto perché essa, oltre a determinare una disabilità settoriale, interferisce con numerose aree dello sviluppo e dell'apprendimento³. Nell'ambito delle funzioni percettive, infatti, la vista riveste un ruolo centrale nello sviluppo neuromotorio, cognitivo ed affettivo del bambino, per cui i deficit visivi possono compromettere seriamente le prime fasi di interazione con la realtà circostante⁴.

Nei Paesi industrializzati ed in via di sviluppo una delle cause principali di cecità infantile nei primi anni di vita è rappresentata dalla ROP o Retinopatia della Prematurità⁵. Nei successivi anni di

vita, invece, intervengono e diventano preminenti le degenerazioni tapeto-retiniche (retinite pigmentosa, amaurosi congenita di Leber, malattia di Best, malattia di Stargardt) e le otticopatie, in particolare, l'atrofia ottica ^{6,7}.

Nello scenario delineato la ROP costituisce una patologia che è fondamentale riconoscere precocemente poiché, se diagnosticata e trattata precocemente e correttamente, può spesso avere un buon outcome funzionale ^{8,9}.

La ROP, un tempo chiamata Fibroplasia Retrolentale, è una malattia proliferativa multifattoriale la cui base patogenetica risiede in un incompleto ed alterato sviluppo post-natale della rete vascolare retinica.

E' interessante notare come negli ultimi sessant'anni le cause di cecità neonatale, in seguito alla identificazione della ROP, abbiano subito un radicale cambiamento.

Infatti, nel 1942 Terry TL segnalò il primo caso al mondo di Retinopatia della Prematurità osservato al Massachusetts Eye and Ear Infirmary di Boston ¹⁰. Si trattava di un prematuro che presentava una leucocoria bilaterale dovuta ad una membrana bianco-grigiastra vascolarizzata situata subito dietro il cristallino.

Uno dei due occhi fu enucleato nel dubbio si trattasse di un retinoblastoma. L'esame istopatologico rivelò però che la retina era inglobata in una densa struttura fibrovascolare che, dallo stesso Terry fu, in prima istanza, valutata come una variante di una persistenza del vitreo primario iperplastico o come un'anomalia del sistema ialoideo. In uno dei suoi numerosi lavori scientifici sull'argomento, Terry introdusse per la prima volta il termine di Fibroplasia Retrolentale (RLF) ^{11,12,13}.

Nel 1949 Owens ed Owens a Baltimora per primi riuscirono a dimostrare che la RLF non era da attribuire ad anomalie del sistema ialoideo poiché osservarono che in alcuni prematuri, del tutto normali alla nascita, compariva solo in un secondo momento una dilatazione delle vene ed una tortuosità delle arterie retiniche associate ad una neovascolarizzazione con edema ed emorragie vitreali che esitavano infine in un distacco di retina ¹⁴.

Numerosi studiosi iniziarono così a rivolgere il loro interesse verso la RLF migliorando le conoscenze su questa nuova patologia ^{15,16,17}.

Nel 1951 Health propose così, per la prima volta, la definizione di Retinopatia della Prematurità.

Nello stesso anno la prima studiosa ad intuire una relazione causa-effetto tra ossigeno e retinopatia della prematurità fu Kate Campbell presso l'Università di Melbourne ¹⁸.

In seguito ad alcune osservazioni epidemiologiche effettuate, nel 1952 Patz, Hoeck e De La Cruz pubblicarono il primo trial clinico controllato sulla somministrazione d'ossigeno per il trattamento della patologia respiratoria nei neonati pretermine . Se da un lato si osservò che l'erogazione libera di ossigeno ad elevate concentrazioni determinava un significativo incremento del tasso di sopravvivenza di neonati di peso alla nascita anche molto basso, dall'altro si dimostrò un netto incremento di casi di cecità infantile ¹⁹.

Nel 1953 Ashton, effettuando degli studi sulla retinopatia sperimentale da ossigeno (OIR) indotta su animali, spiegò che la grave vasocostrizione riscontrata dava luogo ad anomalie retiniche vasali e, in particolare, ad una neovascolarizzazione ²⁰. In seguito, dimostrò anche che lo sviluppo della retinopatia era consentito dai vasi retinici immaturi e, come tali, più sensibili all'azione tossica dell'ossigeno nei primi giorni di vita. Non era, infatti, possibile ottenere una OIR in animali in cui la maturazione vascolare retinica era completa ²¹.

Tuttavia, il ruolo determinante svolto dall'ossigeno risaltò nel 1956 in maniera eclatante nello studio clinico multicentrico randomizzato aperto di Kinsey, Jacobus ed Hemphill in cui si confermò la correlazione tra un'eccessiva ossigenoterapia e l'insorgenza della retinopatia. In particolare, questo studio evidenziò un rischio triplo di ROP in neonati senza affezione polmonare ma che avevano ricevuto una supplementazione di ossigeno superiore al 50% per 4 settimane ²². Sulla base di queste conoscenze, da allora in poi i prematuri non vennero più trattati con dosi elevate di ossigeno.

Di fatto, dopo tale studio e per un periodo di circa venti anni, la ROP sembrò scomparsa tanto che si era giunti alla convinzione che se la concentrazione di ossigeno non superava il 40% e se esso veniva somministrato solo in casi di effettiva necessità clinica, la cecità nei prematuri fosse ormai un'eccezione ²³.

A partire dalla metà degli anni Sessanta divenne possibile misurare la PaO_2 nel sangue arterioso ed alla fine degli anni Settanta fu introdotta la monitorizzazione transcutanea dell'ossigeno che rese possibile un più assiduo ed attento controllo dell'ossigenazione dei prematuri ^{24,25,26}.

Nel contempo, l'assistenza del prematuro da parte dei neonatologi è progressivamente divenuta più raffinata assumendo i caratteri di una terapia intensiva analoga a quella dei centri di rianimazione. Si è così assistito, nei Paesi più evoluti, ad una sempre più alta sopravvivenza di neonati di bassissima età gestazionale e peso alla nascita. Tuttavia, conseguentemente a questi miglioramenti, si è registrato negli anni Ottanta e Novanta un incremento di casi di ROP, soprattutto le forme più gravi, tanto da definire questa situazione come una “seconda epidemia” correlata, questa volta, non all'inadeguata monitorizzazione dell'ossigeno, quanto all'aumento dei tassi di sopravvivenza dei prematuri ^{27,28}.

Negli ultimi anni, alcuni Autori hanno anche parlato di una “terza epidemia” riconducibile a due diversi fenomeni epidemiologici: da un lato, un forte aumento di casi di ROP nei Paesi in via di sviluppo legato all'importazione di tecnologie rianimatorie neonatali non accompagnate da un'adeguata preparazione del personale medico, dall'altro un aumento di casi di ROP grave in bambini ELBW (Extremely Low Birth Weight), ovvero bambini con bassissimo peso alla nascita (<750 gr) e bassissima età gestazionale (< 26 settimane), legata al miglioramento della sopravvivenza nei Paesi

industrializzati dove la prevalenza della cecità da Retinopatia della Prematurità è del 6-20% ^{29,30,31,32}.

Nei Paesi poveri, come ad esempio l'Africa sub-Sahariana, la ROP è una patologia virtualmente inesistente a causa dell'elevatissimo tasso di mortalità infantile, mentre nei Paesi in via di sviluppo come l'America Latina e l'Europa dell'Est la sua prevalenza è del 60% rappresentando così la maggiore causa di cecità infantile ^{33,34,35}.

Infatti, i due terzi di tutti i 50000 bambini ciechi per ROP vivono in questi Paesi ³⁶.

In base a queste premesse, assume quindi un ruolo particolarmente importante la prevenzione della ROP. Secondo Quinn GE le strategie che dovrebbero essere messe in atto per prevenire la cecità da ROP si articolano su almeno tre livelli: l'eliminazione delle nascite pretermine, il miglioramento delle cure nelle terapie intensive neonatali e l'effettuazione di una diagnosi quanto più precoce possibile ³⁷. Ed è proprio su quest'ultimo punto che l'attenzione dell'oftalmologo si dovrebbe focalizzare per ridurre l'incidenza della malattia ³⁸. A tutt'oggi, numerosi sono gli oftalmologi che indirizzano i loro interessi e i loro sforzi verso lo studio della retinopatia della prematurità, migliorando costantemente le nostre

conoscenze su questa malattia, anche se ancora molti sono gli aspetti oscuri da indagare e comprendere. Rimane, per esempio, senza spiegazione la ragione per cui la ROP si manifesti solo in una parte dei nati pretermine di peso molto basso alla nascita, a parità di condizioni cliniche generali, risparmiandone altri; oppure il motivo per cui, a parità di trattamenti medici e chirurgici, in alcuni casi la retinopatia regredisca spontaneamente, mentre in altri evolva verso la cecità. Lo studio della ROP, con tutte le sue numerose problematiche e sfaccettature, deve quindi costituire un' importante sfida ed una responsabilità per gli oftalmologi chiamati ad intervenire su bambini che oggi non sono ancora destinati ad avere una vita normale.

SVILUPPO DELLA VASCOLARIZZAZIONE RETINICA

La retina, dal punto di vista embriologico, è un'estensione del diencefalo, e come tale, un utilissimo modello di studio sia dei processi di vascolarizzazione del Sistema Nervoso in senso lato, sia dell'analisi dell'angiogenesi retinica in senso stretto³⁹.

La conoscenza della vascolarizzazione retinica fisiologica è particolarmente importante dato che molte retinopatie sono causate da una crescita vascolare anormale, e, tra queste, rientra sicuramente la Retinopatia della Prematurità⁴⁰.

La retina ha due fonti di irrorazione sanguigna: i vasi coroideali che assicurano la vascolarizzazione della porzione esterna, ed i vasi retinici che provvedono alla vascolarizzazione della retina interna che, normalmente, si sviluppa più tardivamente^{41,42}. Studi ultrastrutturali su retine di ex-prematuri hanno dimostrato che i vasi retinici interni originano dalla migrazione, a partire dalla 16^a settimana di età gestazionale, di cellule mesenchimali fusate dette spindle cells, che partono dal nervo ottico e procedono nel tempo verso l'ora serrata.

Tali cellule derivano dall'avventizia dei vasi ialoidei e, nella loro migrazione verso la periferia, percorrono degli spazi cistoidi. Esse possono essere distinte dalle adiacenti cellule di Müller perché queste ultime contengono filamenti di proteine acide glio-fibrillari (GFAP+), secernono una lamina basale come la membrana limitante interna della retina e contengono profili puntati del reticolo endoplasmico rugoso, tutte caratteristiche assenti nelle spindle cells.

Via via che si incrementa la migrazione delle spindle cells verso la periferia, all'interno degli spazi cistoidi dello strato delle fibre nervose in via di formazione, tali cellule contraggono estesi contatti di superficie tra di loro e con i processi laterali delle cellule di Müller. Posteriormente al fronte migrante di cellule, si formano dei cordoni solidi in cui compaiono dei lumi iniziali al cui interno sono già evidenziabili dei globuli rossi ³³. Si attua poi una metamorfosi delle spindle cells in cellule endoteliali con un processo di canalizzazione. Le spindle cells arrivano all'ora serrata a circa 29 settimane di età gestazionale, mentre i vasi retinici maturano con notevole ritardo e raggiungono la periferia retinica temporale solo a termine della gestazione. Ciò comporta il fatto che il pretermine nasce con una retina periferica avascolare di 360° che è tanto più ampia quanto più bassa è l'età gestazionale.

Condizione essenziale perché la migrazione e la maturazione delle spindle cells avvengano regolarmente è rappresentata dal fatto che il processo si verifichi in condizioni di ipossia quale si ha all'interno dell'utero.

E' importante ricordare che il sangue che circola nel feto è di tipo venoso con una PaO_2 di 25 mmHg e una PaCO_2 di 45 mmHg. In caso di nascita pretermine, a prescindere dal fatto che venga instaurata o meno una supplementazione con ossigeno per problemi respiratori, per il semplice fatto che il neonato sia esposto all'aria ambiente presentando un'arterializzazione del sangue, la PaO_2 passa da 25 mmHg ad almeno 70 mmHg. Tale condizione è, ovviamente, esasperata da un'eventuale intubazione con supplementazione di ossigeno.

Se l'età gestazionale è molto bassa e i vasi retinici interni sono ancora molto immaturi, la condizione di iperossia che si è instaurata comporta una serie di conseguenze. La prima è che ai vasi retinici in formazione arriva sangue ricco di ossigeno in modo diretto. A ridosso di essi arriva, però, una grande quantità di ossigeno direttamente dalla coroide e attraverso i fotorecettori retinici che, essendo ancora immaturi, non riescono a metabolizzarlo e a trattenerlo in maniera sufficiente. La carenza di sostanze antiossidanti a livello della retina immatura fa sì che i

radicali liberi dell'ossigeno possano esercitare i loro effetti lesivi vascolari. Le spindle cells, esposte a una condizione iperossica, presentano un netto incremento delle gap-junctions tra di loro. Tale evento comporta un arresto della loro migrazione e canalizzazione. L'arresto nella formazione dei vasi retinici comporta, nel momento in cui viene sospesa l'erogazione di ossigeno, una condizione di relativa ipossia nella retina interna che induce la liberazione di fattori angiogenetici.

E' importante sottolineare come il controllo molecolare sia un elemento cardine nella vasculogenesi retinica modulata tramite pathways di segnalazione ligandi-recettori quali ad esempio VEGF, Ang1, Ang2, TGF β 1, PDGF, IGF-1, HIF ⁴³.

La secrezione endoteliale di PDGF, ad esempio, attrae le cellule mesenchimali che si mettono in contatto con le cellule endoteliali. Questo contatto attiva il TGF β 1, che blocca la proliferazione e la migrazione delle cellule endoteliali, induce la differenziazione delle cellule parietali e, in definitiva, consente la maturazione dei vasi neoformati ⁴⁴.

L'azione dell'angiopoietina 1 (Ang1) è quella di stabilizzare i vasi in assenza dei periciti, ma svolge certamente un ruolo più importante l'angiopoietina 2 (Ang2), la cui azione, infatti, induce una regressione

dei vasi in assenza di VEGF, mentre produce una proliferazione in presenza di VEGF ⁴⁵.

Il mediatore che svolge un'azione essenziale nel processo di angiogenesi è il VEGF, in quanto la gemmazione dei vasi superficiali è un processo guidato da questo fattore angiogenetico prodotto dalle cellule gliali ⁴⁶.

Il vascular endothelial growth factor (VEGF), è il regolatore chiave dell'angiogenesi sia fisiologica che patologica, i cui effetti biologici sono implicati nel controllo della crescita e differenziazione di molte componenti anatomiche del sistema vascolare e mediati da due recettori tirosin chinasi (RTKs) : VEGFR1 o Flk-1 e VEGFR2 o Flt-1 .

Il VEGFR1, quando lega il VEGF, stimola la proliferazione delle cellule endoteliali; il VEGFR2 promuove la migrazione delle cellule endoteliali e l'interazione cellula-cellula e cellula-matrice.

I VEGF, upregolati dall'ipossia, rivestono molteplici ruoli nell'angiogenesi; infatti, oltre a stimolare specificamente la mitosi delle cellule endoteliali e quindi l'angiogenesi in vivo, stimolano la produzione di collagenasi, aumentano la permeabilità vasale e hanno effetti neuroprotettivi e pro-infiammatori.

Nuove acquisizioni sul VEGF sono state ottenute dagli studi di Chan-Ling T e Stone J ⁴⁷. Tali autori, in ricerche sperimentali condotte su gatto

neonato, hanno studiato il comportamento degli astrociti retinici e la liberazione da essi del VEGF in diverse condizioni di ossigenazione⁴⁸. I risultati ottenuti indicano che, durante il periodo di iperossia, gli astrociti continuano a sopravvivere, mentre la loro espressione del VEGF si riduce fortemente, inibendo in tal modo lo sviluppo dei vasi. Quando, con il ritorno in aria ambiente, la retina interna si ritrova in condizioni di ipossia, gli astrociti degenerano. In queste condizioni il VEGF viene secreto soprattutto dai neuroni degli strati retinici interni e induce la crescita proliferativa dei vasi sia nella retina stessa, sia verso la cavità vitreale⁴⁹.

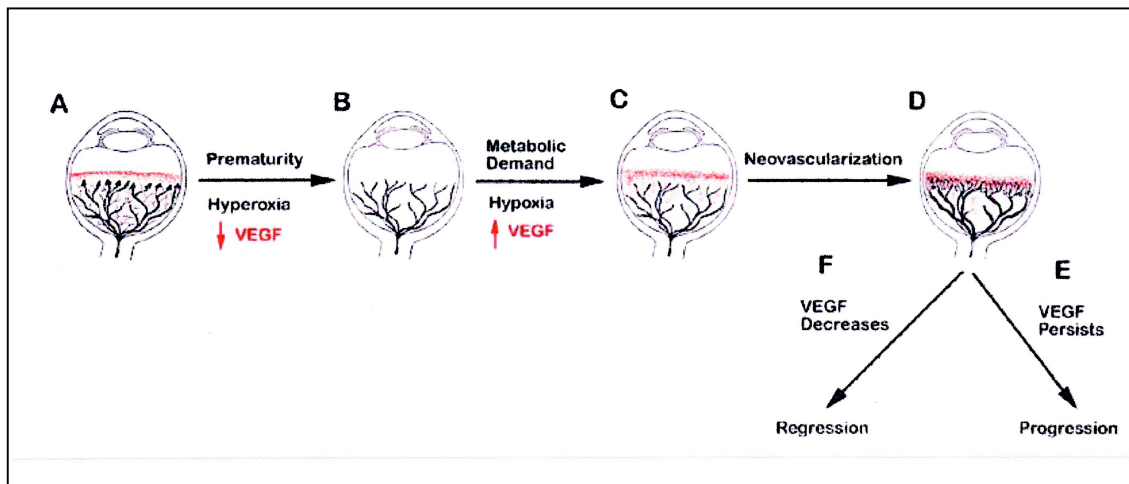


Immagine 1 *Ruolo del VEGF*

Un altro aspetto particolarmente importante è rappresentato dalla maturazione dei fotorecettori retinici. Nelle più basse età gestazionali, i recettori retinici sono fortemente immaturi e sono presenti solo al polo posteriore retinico. Con il passare delle settimane, si attua una maturazione progressiva dei fotorecettori che si concretizza prima al centro della coppa retinica e poi verso la periferia. In tal modo, all'età gestazionale di 28 settimane, per esempio, esistono fotorecettori giunti ad un grado quasi completo di maturazione nel polo posteriore e per alcuni gradi di distanza da esso, mentre nella media periferia retinica la loro maturazione è ancora scarsa e lo è ancora di più nelle aree periferiche. In pratica, la maturazione dei fotorecettori avviene in un modo abbastanza parallelo a quello dei vasi retinici. Ciò è particolarmente importante dato che i fotorecettori retinici non soltanto secernono l'IRBP (Interstitial Retinal Binding Protein), una glicoproteina componente la matrice interfotorecettoriale che lega e veicola la vitamina E, un essenziale fattore antiossidante, ma sono anche dei forti consumatori di ossigeno^{50,51}. La vitamina E viene veicolata dall'IRBP nello spazio sottoretinico fra l'epitelio pigmentato retinico e la neuroretina. In questo modo la vitamina E proteggerebbe la proliferazione delle cellule fusiformi, che avviene nello strato delle fibre nervose, dagli effetti dell'iperossia.

La IRBP, prodotta solo dai fotorecettori più maturi (stadi 3 e 4), non raggiunge l'ora serrata prima della 32^a settimana di gestazione. I prematuri con bassa EG presentano vaste aree della retina periferica in cui la concentrazione di vitamina E è bassa cosicché le cellule fusiformi, meno protette, subiscono il danno ossidativo: arrestano la migrazione, cessano di canalizzarsi, cominciano a formare gap-junctions e a sintetizzare e liberare fattori angiogenici che per circa 8-10 settimane inducono una vascolarizzazione abnorme al margine tra retina vascolare ed avascolare ^{52,53}. In questo modo la vitamina E proteggerebbe dagli effetti dell'iperossia, e, ancor oggi, manterrebbe un ruolo anti-lesivo nel panorama più complesso della teoria delle “due fasi” di Ashton e Patz, attualmente una delle teorie più accreditate sulla complessa eziopatogenesi della ROP ^{19,20,21}.

PATOGENESI DELLA ROP

La patogenesi della ROP rappresenta a tutt'oggi un capitolo molto importante e ricco di controversie nell'ambito dell'oftalmologia pediatrica.

La retinopatia del pretermine fu descritta la prima volta da Terry TL nel 1942, e già due anni dopo, la sua patogenesi era strettamente collegata con l'eccessiva supplementazione d'ossigeno ¹⁰. Durante la seconda epidemia, avvenuta tra gli anni Ottanta e Novanta, sembrò invece evidente che il ruolo svolto dall'ossigenoterapia fosse meno importante rispetto a quanto pensato in precedenza. Si osservò, infatti, che l'incidenza e la severità della ROP erano inversamente proporzionali al peso alla nascita e all'età gestazionale, elementi entrambi fortemente correlati ad una vascolarizzazione anormale ^{27,28}. Ciò implicava che una grave prematurità conferisse un'aumentata predisposizione ad una angiogenesi anomala in quanto il basso peso alla nascita e una bassa età gestazionale aumentavano la probabilità di una più ampia zona di retina avascolare (RAV), fattore direttamente correlato alla severità della malattia ⁵⁴.

Dopo numerosi anni di studio, sono stati identificati molti fattori associati in modo statisticamente significativo con la ROP tra cui ricordiamo: l'iperossia, l'ipossia, la durata dell'ossigenoterapia e della ventilazione meccanica, l'insorgenza di sepsi, di episodi di shock, di emorragie intraventricolari, la prematurità, i deficit di fattori antiossidanti, l'ipercapnia, l'ischemia-riperfusione ⁵⁵, l'apnea, l'esposizione alla luce, le emotrasfusioni, le emorragie endocraniche, la persistenza del dotto arterioso di Botallo ⁵⁶, la displasia broncopolmonare, la candidemia, l'iperglicemia ⁵⁷, l'assunzione di antistaminici da parte della madre nelle ultime settimane di gravidanza ^{58,59}. Questo ricco elenco dimostra chiaramente la complessità delle eziopatogenesi della ROP. Tale malattia ha quindi indubbiamente una genesi multifattoriale comprovata anche dal fatto, ad esempio, che non tutti i nati pretermine trattati con supplementazione con ossigeno sviluppano obbligatoriamente una retinopatia, e dalla osservazione che la ROP può colpire anche neonati di età gestazionale elevata (34-36 settimane) nei quali i fattori concausali possono svolgere un ruolo patogenetico più determinante della prematurità stessa.

Per quel che riguarda l'eziopatogenesi della ROP ossigeno-relata esistono numerose evidenze sperimentali e cliniche ²⁰.

L'ossigeno agisce attraverso due possibili meccanismi:

la diretta tossicità ad opera di radicali liberi che inducono la formazione di “gap-junctions” nelle spindle-cells angiogeniche con interruzione della formazione dei vasi e liberazione di sostanze angiogeniche;

e la più recente teoria bifasica della eziopatogenesi della ROP introdotta da Norman Ashton e Arnall Patz. Secondo questi studiosi la prima fase sarebbe caratterizzata dal mancato sviluppo dei vasi dopo la nascita prematura del bambino, a causa dell'iperossia ambientale che sopprime l'angiogenesi VEGF-guidata ^{20,60}. Infatti, considerando che fisiologicamente la formazione della vascolarizzazione retinica si verifica in utero, dove la tensione d'ossigeno è <30 mmHg, la supplementazione ventilatoria, necessaria per la sopravvivenza di questi piccoli pazienti, interferisce con il normale sviluppo dei vasi tramite la soppressione del VEGF ^{54,61}.

Inoltre, l'iperossia determinerebbe una vasocostrizione dovuta ad alterazioni funzionali della regolazione vasomotoria del sistema vascolare retinico non ancora giunto a completa maturazione. Normalmente la circolazione retinica possiede un sistema di autoregolazione in risposta ai cambiamenti di PaO₂, di PaCO₂ e della pressione arteriosa sistemica.

L'iperossia induce una vasocostrizione riflessa mirata a proteggere i vasi e i tessuti retinici dall'eccesso di ossigeno. Tuttavia, se tale vasocostrizione è molto prolungata, può portare nella retina immatura ad una vera e propria obliterazione vasale con conseguente ipossia degli strati interni della retina, anche in considerazione del fatto che retine molto immature potrebbero non avere la reversibilità della vasocostrizione da ossigeno. L'ipossia che caratterizza la seconda fase induce la proliferazione vascolare tipica della ROP ²⁰. Durante la prima fase sono oftalmoscopicamente visibili zone retiniche avascolari periferiche le quali, parallelamente alla crescita e alla maturazione extrauterina dei pretermine, diventano metabolicamente attive ed ipossiche ^{42,46}.

Si entra, quindi, nella seconda fase che si verifica tra le 32 e le 34 settimane di età post-concezionale. Tale fase è caratterizzata da una importante neovascolarizzazione indotta dall'ipossia, in maniera simile alle altre retinopatie proliferative ^{42,46,61}.

Inoltre, in questa fase, aumenta la concentrazione di citochine quali il VEGF ipossia-indotto, e l'IGF-1 (insulin growth factor), che stimolano la mitosi delle cellule endoteliali vascolari. In particolare IGF-1 è un importante fattore di crescita vascolare indipendente dall'ossigeno ⁶¹.

Stretta è la correlazione tra il VEGF e lo sviluppo della retinopatia proliferativa: l'ipossia retinica stimola l'espressione del VEGF prima dello sviluppo della neovascolarizzazione; un'ulteriore controprova consiste nella ridotta risposta angiogenetica in seguito all'inibizione del VEGF.

Questi risultati corrispondono a ciò che è stato riscontrato clinicamente in questi pazienti con ROP, cioè un'aumentata espressione di VEGF a livello retinico, nel vitreo e, in studi sperimentali, anche nel siero ⁶².

L'azione del GH, implicato tra l'altro anche nella retinopatia diabetica proliferativa, è mediata dall'IGF-1 e consiste nel regolare la crescita di neovasi, stimolati dal VEGF. Infatti, bassi livelli di IGF-1 inibiscono la neovascolarizzazione nonostante la presenza di VEGF ^{20,60}.

È cioè presente un rapporto gerarchico tra IGF-1 e VEGF, non essendo quest'ultimo da solo in grado di promuovere una vigorosa angiogenesi retinica ^{20,60}. IGF-1 quindi stimola il normale sviluppo vascolare retinico.

Subito dopo la nascita, essendo IGF-1 prodotto dalla placenta e dal liquido amniotico, si verifica una brusca caduta del suo livello ematico, che è associata con l'arresto della vascolarizzazione e con la successiva ROP proliferativa. La scoperta del VEGF e dell'IGF-1 come fattori pro-angiogenetici e del loro importante ruolo giocato, dopo la nascita

prematura, nelle due fasi della malattia, costituisce un valido passo in avanti nella conoscenza della patogenesi della ROP ^{20,60}.

Questi studi, inoltre, suggeriscono modalità d'intervento medico con approccio diverso nelle due fasi della malattia, suppletivo nella prima e inibitorio nella seconda, in conformità al "timing" di sviluppo fisiologico-patologico della vascolarizzazione ^{20,60,61}.

È evidente, in effetti, che la retinopatia è una malattia peculiare in quanto colpisce un organismo che non ha completato il suo normale sviluppo embriologico, per cui l'arresto dei processi di vascolarizzazione retinica e il "timing" di questo arresto sono elementi essenziali da considerare nel valutare la gravità e l'estensione del danno retinico ⁴³.

Per comprendere gli studi e la teoria bifasica di Ashton e Patz in maniera completa, è necessaria una spiegazione delle differenti caratteristiche dei due sistemi vascolari coroideale e retinico. Nei neonati prematuri la vascolarizzazione retinica non è ancora completamente sviluppata mentre la vascolarizzazione coroideale è completa e presente anche in periferia. Il rapido flusso coroideale costituisce così la fonte di ossigeno per i fotorecettori. Sebbene l'ossigenazione coroideale varia in base alla pressione parziale di ossigeno nel sangue, il calibro dei vasi è poco influenzato dal contenuto di ossigeno.

Infatti, negli occhi “immaturi” i vasi coroideali non possiedono meccanismi di autoregolazione a differenza dei vasi retinici, che forniscono ossigeno agli strati retinici interni. Variazioni nel livello di ossigeno comportano modificazioni del calibro dei vasi retinici con conseguente variazione del flusso e dell’ossigenazione della retina interna post-recettoriale. Nella retina immatura la vascolarizzazione retinica non ha ancora raggiunto la periferia. Prima che la vascolarizzazione periferica si completi, l’ossigenazione delle cellule retiniche in questa porzione di retina dipende dalla diffusione di ossigeno dalla coroide o probabilmente dall’adiacente retina più centrale.

Se lo sviluppo della vascolarizzazione retinica è ritardata dalla esposizione ad alti livelli di ossigeno ambientale, i fotorecettori devono continuare il loro sviluppo in aree della retina con flusso coroideale senza contributo retinico ⁶³. I fotorecettori, che contengono circa il 90% dei mitocondri retinici ⁶⁴, hanno un elevato consumo metabolico per il funzionamento della pompa sodio potassio e l’attività di membrana ed hanno una elevata richiesta di ossigeno. L’ipossia conseguente al passaggio in ambiente si creerebbe in quanto l’estrazione di ossigeno dal flusso coroideale non sarebbe in grado di soddisfare le richieste

metaboliche dei fotorecettori con conseguente alterazione sia dei fotorecettori che della retina interna.

E' importante sottolineare come alcuni studi hanno dimostrato che livelli oscillanti d'ossigeno sono più dannosi della tensione complessiva dell'ossigeno, poiché nei neonati in cui la ROP aveva raggiunto uno stadio che richiedeva un intervento chirurgico, la fluttuazione nella pressione parziale d'ossigeno era stata significativamente più elevata che per quelli con una ROP non chirurgica ^{24,25,65}.

Lo studio clinico del Supplemental Therapeutic Oxygen to Prevent Retinopathy of Prematurity (STOP-ROP), che ha investigato se l'ossigeno terapeutico supplementare per i nati prematuri riduce la proporzione di neonati con ROP presoglia che progredisce a ROP soglia, ha dimostrato che i neonati con ROP presoglia avevano livelli di vascolarizzazione più lenti quando le loro saturazioni venivano portate dal 96% fino al 99% paragonato al target che va dal 89% al 94% ⁶⁶. Quindi, perché i rischi di ROP siano minimizzati il più possibile, è necessario che i livelli di ossigeno siano controllati attentamente, maggiormente nei neonati che presentano una retina immatura o una ROP.

Fra i numerosi studi condotti nel tentativo di chiarire la patogenesi della ROP e di individuare gli effetti della iperossia su ciascun componente retinico, è di particolare interesse il lavoro svolto da Penn JS ⁶⁷ che ha studiato gli effetti dell'iperossia sull'ERG (Elettroretinogramma) e sui livelli della proteina GFA (glial fibrillary acidic protein) nei ratti neonati. Questo studio sposta l'attenzione finora focalizzata sullo strato retinico esterno, ed in particolare sui fotorecettori, considerati come le cellule più vulnerabili agli effetti dell'ipossia, allo strato retinico interno ed in particolare alle cellule di Müller. Secondo gli studi di Penn, i ratti neonati sottoposti ad ambiente iperossico sembrano mantenere una completa integrità della retina con tre eccezioni: un temporaneo blocco della vascolarizzazione retinica, un permanente deficit dell'onda b all'esame ERG e la produzione della proteina GFAP da parte delle cellule di Müller in risposta all'iperossia.

Tutti questi eventi riflettono le alterazioni che hanno luogo nella retina interna nella ROP acuta e ciò è ragionevole se si considera che gli effetti drammatici dell'esposizione all'ossigeno, l'interruzione della vascolarizzazione e dell'apporto nutritivo, avvengono nella retina interna. L'analisi immunoistochimica indica che l'espressione della proteina GFAP nelle cellule di Müller può avvenire in condizioni patologiche che

non determinano necessariamente la morte di cellule neuronali, suggerendo un effetto diretto dell'ossigeno sulla glia retinica. L'alterazione dell'onda b dell'ERG generata dalle cellule di Müller confermerebbe questi dati.

In definitiva, quindi, sono molteplici i fattori e i cofattori implicati nello sviluppo e nel divenire della retinopatia della prematurità e ancora oggi molta incertezza persiste nella sua reale patogenesi.

CLASSIFICAZIONE DELLA ROP

In passato, i vari stadi della retinopatia della prematurità venivano suddivisi e classificati con sistemi disparati e rivolti prevalentemente agli stadi avanzati ¹⁵.

Nel 1984 si è reso disponibile un nuovo sistema di valutazione standardizzato utile soprattutto ai fini della identificazione del momento in cui eseguire un efficace trattamento chirurgico della malattia.

La Classificazione Internazionale della Retinopatia del Pretermine (ICROP) , intesa come un “consensus statement” del gruppo internazionale di esperti di questa malattia, fu per la prima volta stilata nel 1984, poi modificata nel 1987 ed ulteriormente aggiornata nel 2005^{68,69,70,71}. La stesura di questa classificazione ha permesso di attuare trials clinici multicentrici al fine di migliorare la conoscenza della retinopatia e della sua evoluzione. La classificazione dell'ICROP si basa sulle osservazioni essenziali da effettuare per descrivere la retinopatia, quali la sede, l'estensione, lo stadio, e la presenza/assenza di vasi dilatati e tortuosi definita come “plus disease”.

Per la definizione della localizzazione antero-posteriore della retinopatia sono state descritte tre zone concentriche, centrate sul nervo ottico piuttosto che sulla macula; questa convenzione è stata adottata in correlazione con la normale crescita retinica che procede dal centro della papilla verso l'ora serrata.

La zona I, più posteriore, ha al centro la papilla e, come raggio, quello corrispondente al doppio della distanza esistente tra il disco ottico e la fovea con una estensione di circa 30°.

La zona II inizia al limite della zona I e si estende fino all'ora serrata nel settore nasale e fino all'equatore in quello temporale.

La zona III comprende tutta la retina periferica rimanente e in particolare l'estrema periferia temporale, che è anche l'ultima zona che si vascolarizza nel tempo e quella in cui più spesso insorgono le lesioni tipiche della ROP.

Per quanto riguarda l'estensione delle lesioni, essa viene indicata in base alla localizzazione oraria: una lesione estesa dalle ore 3 alle ore 5 nell'occhio di sinistra corrisponde così al quadrante infero-temporale.

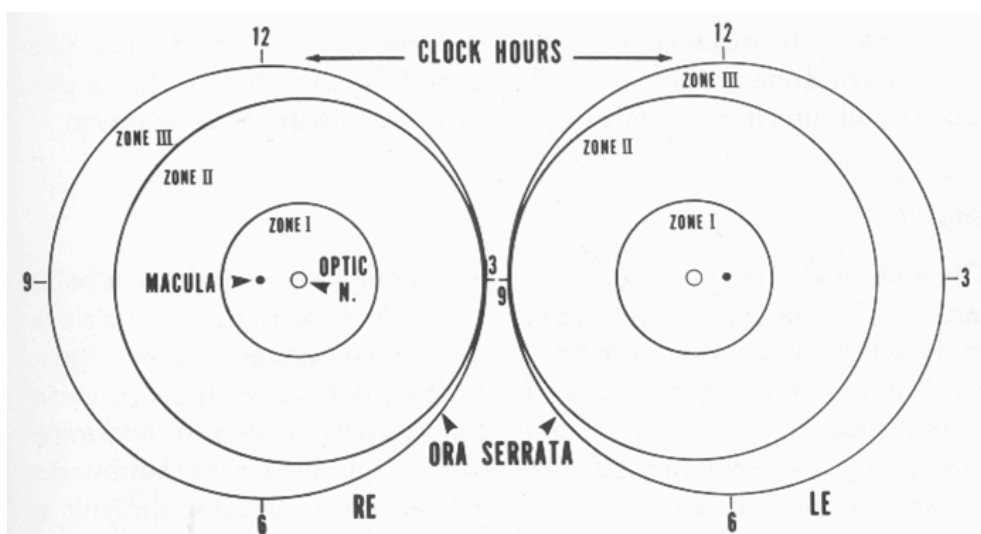


Immagine 2 *Localizzazione ed estensione della ROP*

Per descrivere la gravità della ROP, l'ICROP ha identificato cinque stadi. Stabilito che la ROP va distinta in una fase “attiva” e in una “cicatrizziale”, la gravità delle lesioni della fase attiva si classifica nei primi quattro stadi, a cui va aggiunto un quinto stadio che è quello cicatrizziale.

Nello stadio 1 il primo segno patognomonico di ROP è lo sviluppo di una linea sottile, tortuosa, grigio-biancastra che corre approssimativamente parallela all'ora serrata, la quale separa la retina periferica immatura avascolare dalla retina posteriore vascolarizzata. La linea, definita di demarcazione, è più prominente nella periferia temporale.

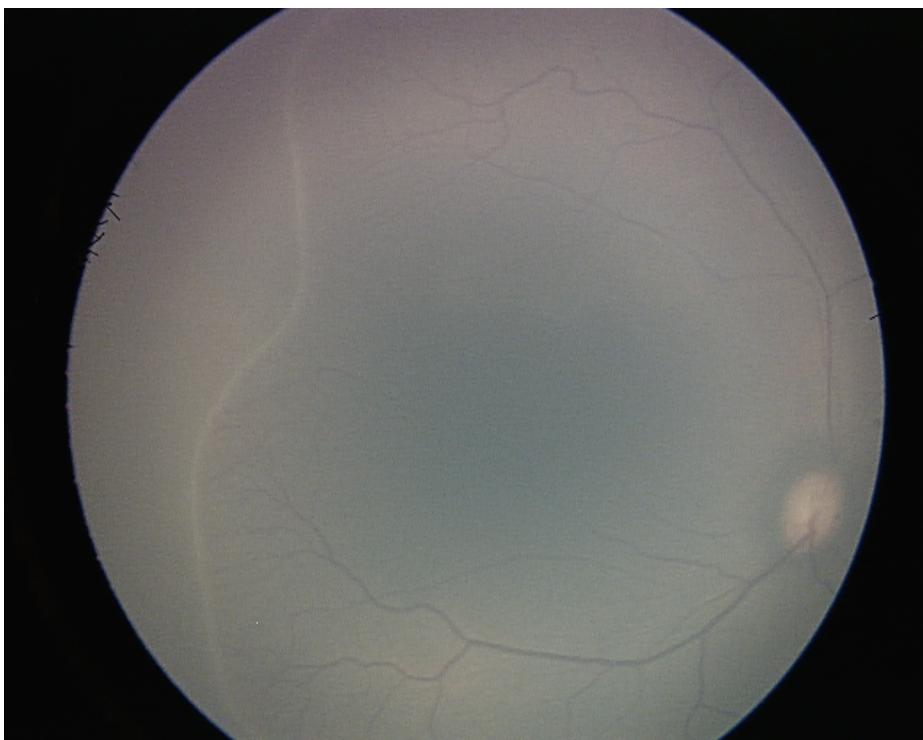


Immagine 3 *Linea di demarcazione nella ROP stadio 1*

Ad una attenta osservazione oftalmoscopica si può notare un iniziale “branching”, cioè delle diramazioni vasali anomale che raggiungono la giunzione tra retina vascolare e avascolare. Tale stadio può comparire a distanza di tempo dalla nascita, ma generalmente lo si apprezza già dopo 4-5 settimane da essa nei pretermine di più bassa età gestazionale. La linea di demarcazione può regredire spontaneamente ed in tal caso la ROP non progredisce e di tale stadio non rimangono quasi mai tracce nel tempo, oppure può evolvere nello stadio successivo.

Nello stadio 2 , con la progressione della ROP, la linea di demarcazione evolve in un “ridge” o cresta, sollevato dal piano retinico.

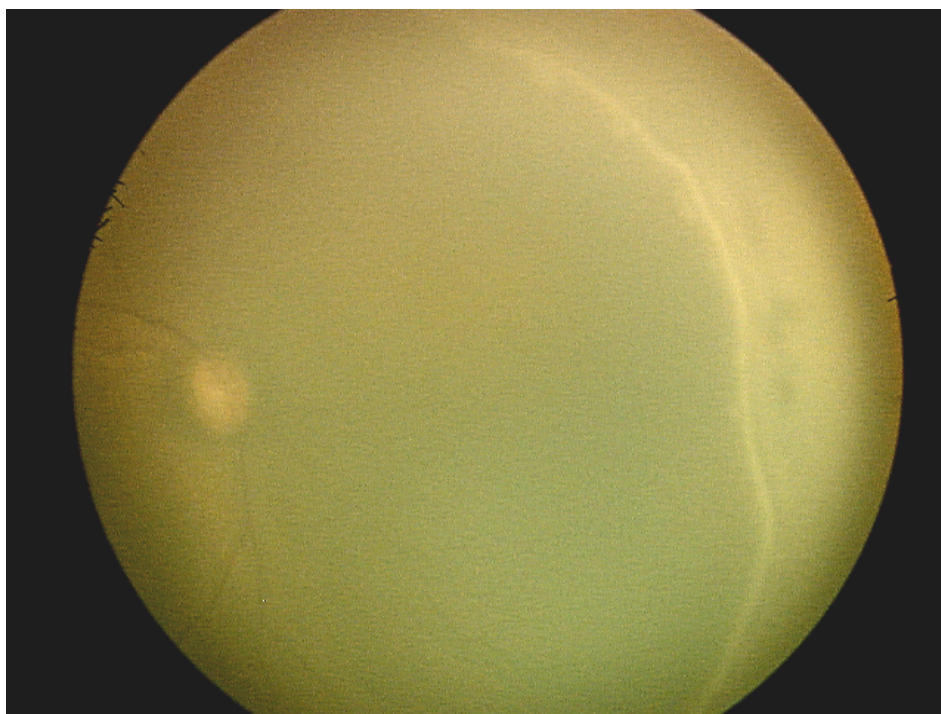


Immagine 4 *ROP stadio 2*

Quest’ultimo, bypassando il circolo capillare, costituisce uno shunt mesenchimale di congiunzione delle arteriole con le vene. I vasi sanguigni entrano nel ridge e posteriormente a questo possono osservarsi ciuffi di neovasi formati, chiamati “popcorn”. La cresta corrisponde ad un ispessimento intraretinico a partenza ed in corrispondenza della linea

di demarcazione. Il colore del ridge varia dal bianco al bianco-crema. Anche tale stadio può regredire spontaneamente senza lasciare traccia.



Immagine 5 *Vasi retinici di una ROP stadio 2*

Lo stadio 3 corrisponde alla presenza del ridge associato ad una proliferazione fibrovascolare extraretinica. Questo stadio è il momento evolutivo più importante della ROP. Spesso, all’osservazione oftalmoscopica si può rilevare un’ampia emorragia retinica o vitreale, oppure uno “shunt nudo”, cioè un enorme shunt circolare lungo 360°,

legato ad una mancata presenza e proliferazione del tessuto fibroso in prossimità del nervo ottico e quindi indice di una estrema prematurità.

La gravità dello stadio 3, suddiviso in lieve, moderato e grave, è in correlazione con l'estensione del tessuto fibrovascolare infiltrante il vitreo.



Immagine 6 *ROP stadio 3*

Nello stadio 4, si verifica il distacco di retina trazionale, che generalmente inizia dal punto di trazione fibrovascolare e quindi si espande centralmente verso la retina vascolare. L'estensione del distacco

retinico dipende dal numero delle ore coinvolte nella trazione e dalla contrazione retinica. Lo stadio 4 è così caratterizzato da un distacco retinico subtotale, suddiviso ulteriormente in stadio 4 A, extrafoveale, cioè con la macula in sede, detto anche “macula on” , e stadio 4 B foveale, in cui si ha il distacco anche della zona foveale, detto “macula off”.

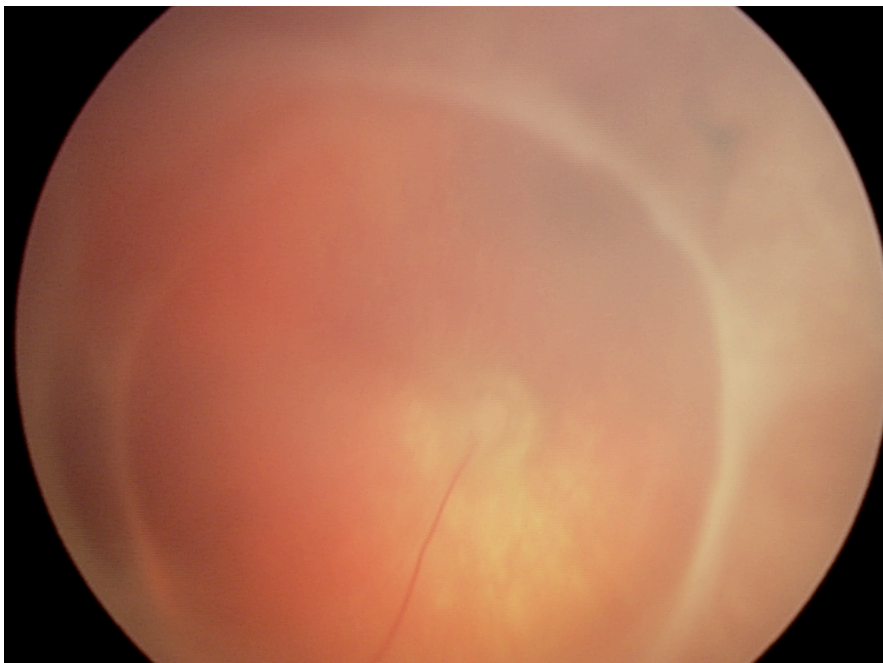


Immagine 7 *ROP stadio 4*

Nello stadio 5 ,o cicatriziale, si ha un distacco di retina trazionale totale, per cui la retina si chiude ad imbuto con la formazione di un piastrone fibroso posteriormente al cristallino, da cui deriva la precedente

definizione di questa malattia: fibroplasia retrolentale. Lo stadio 5 rappresenta la tappa evolutiva finale della ROP.



Immagine 8 *ROP stadio 5*

In questo stadio l'ecografia rappresenta l'indagine diagnostica essenziale ai fini di una strategia chirurgica. L'evoluzione di una ROP cicatriziale lasciata a sé è estremamente infausta non soltanto ai fini funzionali, ma quasi sempre anche dal punto di vista anatomico. Possono, infatti, comparire una serie di complicazioni a carico del segmento anteriore, come una degenerazione corneale, una riduzione della profondità della camera anteriore, delle sinechie posteriori associate o meno a neovascolarizzazione iridea, e un glaucoma secondario; può anche

svilupparsi una cataratta complicata. Considerando, in ultimo, che più di uno stadio ROP potrebbe essere presente nello stesso occhio, la stadiazione è determinata in base alla manifestazione più severa presente. La forma “plus” configura una denominazione particolare che indica una condizione di maggiore severità e probabilità di progressione della ROP; è caratterizzata da un aumento della dilatazione venosa e tortuosità delle arterie del polo posteriore in tutti e quattro i quadranti retinici e secondariamente da una grave congestione vascolare dell’iride, con mancanza della dilatazione pupillare, e da una tendenza all’emorragie preretiniche e vitreali, con sviluppo di opacità vitreali. La forma plus rappresenta una indicazione precisa al trattamento, se associata ad uno stadio 3 esteso a più di due quadranti retinici.

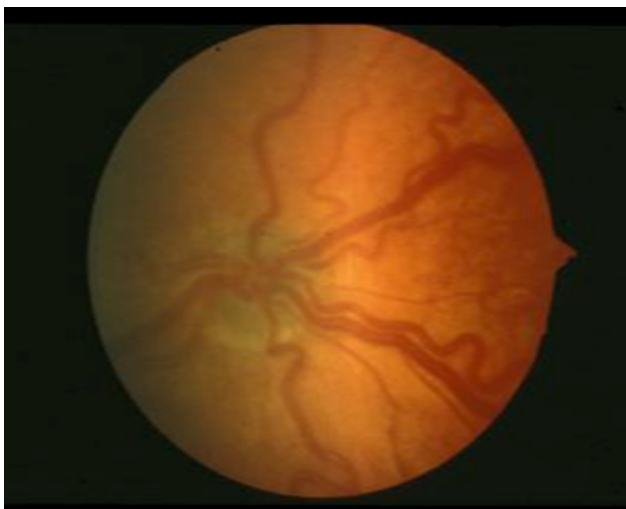


Immagine 9 *Tortuosità vascolare al polo posteriore (plus disease)*

Già nel Cryo-ROP la presenza della plus disease era il fattore più importante nella definizione della “soglia” ovvero del livello raggiunto il quale il trattamento ablativo della retina avascolare era necessario.

La sempre più frequente diagnosi di ROP in zona I e/o con morfologie atipiche ha reso necessaria una rivisitazione della classificazione da parte di alcuni dei protagonisti della ICROP '84 integrati da nuovi esperti. La modifica pubblicata nel luglio 2005 introduce alcuni nuovi concetti relativi alla “Aggressive Posterior ROP”, che riunisce le forme più severe di ROP osservabili nei prematuri Very Low Birth Weight (VLBW) ad andamento molto aggressivo che, se non trattata per tempo, porta inevitabilmente ad uno Stadio 5 ⁷². Tale forma si caratterizza per una localizzazione molto posteriore, non necessariamente in zona I, per la presenza di plus, per l'assenza dei tradizionali stadi, per una rete di neovascolarizzazione piatta nella zona di giunzione fra retina vascolare e avascolare (che può essere facilmente confusa con la circolazione coroideale).

Non si tratta comunque di una nuova forma di ROP ma è certamente un problema rilevante per lo screening dei VLBW.

Altro concetto affrontato è quello relativo alla “definizione di zona I”: è stato sancito un criterio pratico per la sua identificazione secondo il quale

se il disco ottico è messo al margine dell'immagine retinica ottenuta con una lente da 25 o 28 diottrie, il margine della zona I sarà visualizzato dal lato opposto della lente.

Terzo concetto introdotto è quello della “Pre-Plus Disease”, che consiste in una dilatazione e tortuosità abnorme dei vasi al polo posteriore coinvolgente 2 o più quadranti insufficiente alla diagnosi di plus disease.

Fin dal 1984, il Cryo-ROP Study³⁰ ha definito la ROP Soglia (Threshold Disease), ovvero l'estensione e la gravità della ROP a rischio di evoluzione verso il distacco (stadi 4 e 5) che necessita di trattamento, come la ROP stadio 3 con plus disease in zona I o in zona II estesa per 5 o più ore consecutive oppure 8 ore non consecutive.

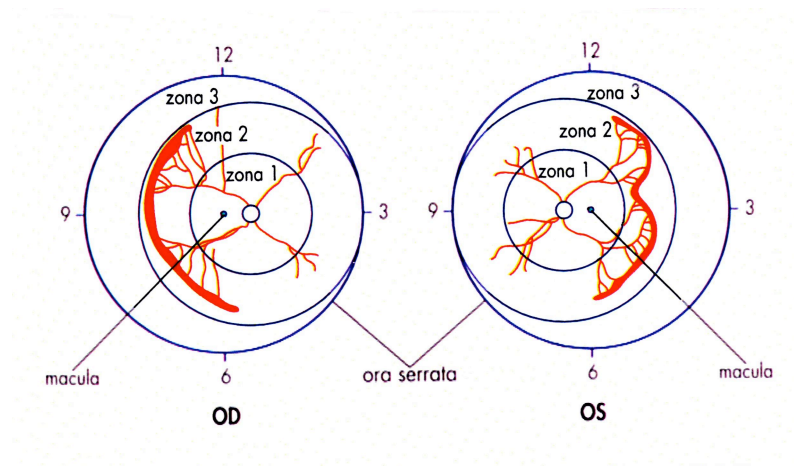


Immagine 10⁷³ *ROP soglia*

In uno studio successivo, allo scopo di definire un livello di attenzione maggiore verso forme di gravità crescente che potevano presagire il passaggio alla soglia, il Cryo-ROP study ha definito la ROP Presoglia (PreThreshold Disease) come:

1. ROP zona I ogni stadio con plus disease
2. ROP zona I stadio 3 senza plus disease
3. ROP zona II stadio 2 o 3 con plus disease
4. ROP stadio 1 o 2 zona I senza plus disease
5. ROP stadio 3 zona II senza plus disease

Tale definizione non aveva valore ai fini del trattamento ma solo per la frequenza dello screening.

Per raggruppare i dati dell'incidenza della ROP, a fini puramente descrittivi, il Cryo ROP ha introdotto il termine “mild ROP” che indica gli stadi 1 e 2 senza sviluppo di plus disease, e di “moderate ROP” che indica o stadio 2 con plus e lo stadio 3 senza plus. Nel corso degli anni altri autori hanno proposto raggruppamenti lievemente diversi che avevano comunque l'obiettivo di ottenere gruppi più numerosi e quindi evitare lo “spread out” che impediva le analisi statistiche più raffinate.

Il miglioramento della sopravvivenza di bambini di peso neonatale ed età gestazionale estremamente bassi ha portato sempre più autori a non seguire i criteri del Cryo-ROP, anticipando i tempi del trattamento vista l'evoluzione sfavorevole dei bambini più prematuri. Utilizzando la stessa definizione di ROP presoglia del Cryo-ROP Study ed un programma per la valutazione dei rischi clinici (risk management) dei bambini prematuri, l'ET ROP ⁷⁶, un secondo studio multicentrico americano, ha distinto due tipi di presoglia:

Tipo 1: ROP zona I	ogni stadio con plus disease
ROP zona I	stadio 3 senza plus disease
ROP zona II	stadio 2 o 3 con plus disease
Tipo 2: ROP zona I	stadio 1 o 2 senza plus disease
ROP zona II	stadio 3 senza plus disease

L'ET ROP ha stabilito che anticipare il trattamento al livello di presoglia nei casi di ROP tipo 1 determina un miglioramento dei risultati anatomici e funzionali del trattamento fotoablativo della retina avascolare. Nel caso di presoglia di tipo 2 è preferibile una strategia di attesa della eventuale comparsa di una ROP soglia "tradizionale". Si può dunque osservare che l'ET ROP ha sancito la prevalenza dei fattori di

“severità” della patologia (ovvero la Plus disease) piuttosto che quelli dell’estensione, che sono presenti nella definizione di ROP soglia.

L’ETROP Study sta ancora valutando gli effetti a lungo termine del trattamento precoce della ROP,rispetto al management convenzionale,in base al miglioramento funzionale,quindi all’acuità visiva, valutata mediante Early Treatment Diabetic Retinopathy Study (ETDRS) ,di bambini scelti in maniera random in un follow-up fino a sei anni d’età ⁷⁵.

ASPETTI CLINICI DELLA ROP

Nel nato pretermine si possono verificare, oltre alla retinopatia, una serie di altre manifestazioni cliniche di particolare rilievo, alcune delle quali direttamente correlate alla ROP, altre, invece, indipendenti da essa.

Tra le manifestazioni oculari più importanti vanno sicuramente ricordate la miopia della prematurità, lo strabismo, l'ambliopia, la cataratta della prematurità e le alterazioni retiniche da ROP arrestata ⁷⁴.

Per quel che riguarda la miopia della prematurità, numerose sono state le indagini condotte nel tentativo di valutare l'incidenza dei vizi di refrazione nei prematuri. Tuttavia, un'analisi accurata dei risultati è di difficile attuazione poiché sono molte le variabili che possono influenzare la determinazione della prevalenza dei difetti refrattivi. In primo luogo, va ricordata l'eterogeneità dei campioni di bambini sottoposti ad esame e le metodiche di studio. Poi, è presente il fattore della familiarità poiché non si può trascurare l'importanza del riscontro di ametropie nei genitori. L'insorgenza di difetti di refrazione sembra essere influenzata da numerosi fattori, come il peso alla nascita, l'età gestazionale e lo sviluppo o meno di una retinopatia. Tra gli altri, Fletcher e Brandon hanno rilevato l'esistenza di una miopia lieve e

tendente a ridursi fino a scomparire, in bambini con peso alla nascita maggiore di 1700 grammi, mentre una miopia piuttosto elevata (tra 10 e 20 diottrie), fluttuante e destinata a ridursi, ma talora anche a persistere in gradi elevati, è stata ritrovata in prematuri di peso inferiore a 1250 grammi. Secondo Tasman la miopia, seppure caratteristica di tutti i gradi di ROP, si manifesta nell'80% dei casi cicatriziali e con una gravità tanto maggiore quanto maggiore è la gravità della lesione retinica ⁷⁵. La patogenesi della miopia del pretermine è stata correlata con diversi fattori. Secondo alcuni Autori, essendo la cornea del prematuro in rapido sviluppo, anche piccoli cambiamenti di curvatura di essa possono giustificare l'insorgenza e la fluttuazione dell'ametropia. Secondo altri, la crescita e lo sviluppo dell'occhio e, in particolare della cornea e della sclera, potrebbero essere organizzati e regolati dalla stessa retina. La ROP, alterando questo meccanismo, potrebbe determinare, in alcuni casi, un aumento della lunghezza assiale e della curvatura corneale ⁷⁶.

I disordini della motilità oculare si presentano negli ex-prematuri con una frequenza di 3-4 volte maggiore rispetto ai nati a termine. Essi sono legati sia a turbe della refrazione, sia ad alterazioni retiniche, ma nella gran parte dei casi si può ricollegare a una sofferenza del SNC legata alla prematurità in sé. Anche in questo caso, come per la miopia, lo strabismo

è stato osservato con maggiore frequenza nei prematuri di più bassa età gestazionale ⁷⁴.

La cataratta nei prematuri si presenta con una incidenza maggiore rispetto ai nati a termine. Se una cataratta congenita compare normalmente nello 0.04% dei nati a termine, è presente nell'1.3% dei nati pretermine. Tale manifestazione clinica non si presenta già alla nascita ma si sviluppa in genere nei mesi successivi ad essa.

Infine, vanno ricordate le alterazioni da ROP arrestata. Quando una ROP regredisce spontaneamente, è talora possibile osservare, a distanza di tempo, una linea di demarcazione biancastra quale residuo della iniziale area di proliferazione fibrovascolare. Oltre a tale alterazione, si possono riscontrare delle lesioni pigmentarie che sono anche le più ricorrenti e al tempo stesso le più benigne, il cui aspetto tipico è a grano di rosario disposto su due file. Si può anche sviluppare una gliosi retinica a ventaglio- un addensamento vitreale con gliosi reattiva apprezzabile soprattutto in periferia che può nel tempo generare una distacco di retina- o una schisi per trazione vitreale. L'insieme di tali lesioni periferiche retiniche, che in alcuni casi assumono nel corso della vita caratteristiche regmatogene, deve indurre a sottoporre gli ex-prematuri a follow-up accurati nel tempo.

SCREENING

Nonostante la grande quantità di studi clinici sulla profilassi primaria della ROP mediante la vitamina E o altri antiossidanti di cui è carente la retina del pretermine, non esiste di fatto una sicura coscienza della loro efficacia. L'unica vera profilassi rimane a tutt'oggi la monitorizzazione dell'ossigeno-terapia benché frequente sia il riscontro di retinopatie insorte in bambini cui non è stato somministrato ossigeno al di sopra di concentrazioni giudicate rischiose. In questo quadro lo screening e la diagnosi precoce della ROP in fase attiva assumono un'importanza strategica poiché, nella stragrande maggioranza dei casi, un trattamento eseguito allo stadio soglia risulta efficace.

Per effettuare un corretto screening dei neonati durante il loro ricovero ospedaliero, è importante una stretta collaborazione tra neonatologi ed oftalmologi ⁷⁷.

In effetti, spetta ai neonatologi effettuare la richiesta per il primo consulto oftalmologico, dopo aver verificato che il neonato sia sufficientemente stabile da poter tollerare l'esame, mentre l'indicazione dell'intervallo per un successivo controllo è determinata dall'oftalmologo, sulla base dei risultati del primo esame e in accordo ai protocolli stabiliti ⁷⁸.

I due criteri essenziali alla base di un efficace protocollo di screening per la ROP sono la scelta della popolazione dei pazienti da esaminare e il “timing” con cui effettuare gli esami ^{77,78}.

Nel Cryo-ROP Study sono stati esaminati secondo un rigido protocollo, a partire da 5-6 settimane di età cronologica o da 31-32 settimane di età postconcezionale tutti i neonati che pesavano 1250 grammi o meno ⁷⁷.

Tra le due età prese come riferimento, il criterio prevalente del Cryo-ROP Study è quello dell’età postconcezionale (EPC = età gestazionale + età cronologica), in quanto vero “orologio biologico” nello sviluppo della vascolarizzazione retinica ⁷⁷.

Inoltre, questo studio multicentrico americano, aveva stabilito che gli esami successivi erano da effettuare a seconda della severità della malattia riscontrata all’esame iniziale: se l’esame iniziale indicava una ROP senza presoglia, i bambini venivano esaminati ogni 2 settimane fino ad una conferma della regressione; se era presente una ROP presoglia, il neonato veniva esaminato ogni settimana fino alla guarigione della malattia; se l’esame iniziale indicava la presenza di ROP soglia, previa conferma di un secondo esaminatore, si procedeva alla chirurgia ablativa della retina avascolare (allora effettuata con la Crioterapia) entro 72 ore;

in caso di ROP in zona III, che costituisce un rischio molto basso, si effettuava il controllo ad intervalli più lunghi.

Tuttavia, ben presto questi criteri sono risultati inadeguati a causa dell'aumentata sopravvivenza dei bambini di età gestazionale e peso alla nascita bassi o molto bassi, decretando quindi la necessità della definizione di criteri più restrittivi.

L'American Association for Pediatric Ophthalmology and Strabismus insieme con l'American Academy of Ophthalmology e l'American Academy of Pediatrics formularono nel 1997 un "Joint Statement" rivisto nel 2001, in cui si stabilisce che tutti i neonati con peso alla nascita inferiore o uguale a 1500 grammi e/o età gestazionale inferiore o uguale a 28 settimane dovrebbero essere esaminati da un oftalmologo con una specifica esperienza nell'esame dei neonati pretermine ⁷⁹. Inoltre, i neonatologi dovrebbero individuare quei prematuri con un peso alla nascita superiore ai 1500 grammi che sembrano essere ad alto rischio per la ROP per aver presentato particolari problematiche nel periodo postatale in modo da estendere i controlli anche a loro ⁸⁰.

Non ci sono, però, indicazioni precise che stabiliscano quali dei neonati con peso alla nascita superiore ai 1500 grammi debbano effettivamente essere arruolati nel programma di screening. In genere vengono seguiti

quelli che hanno richiesto la ventilazione, quelli che sono stati ipotesi, o che hanno ricevuto ossigeno per tempi prolungati ⁸¹.

I neonati che superano le 37 settimane di gestazione o poco più di solito non necessitano di controlli per la ROP, anche se hanno presentato un decorso instabile.

Sulla base di quanto riportato nel “Joint Statement” del 2001 i neonati con ROP o vasi immaturi trovati nella zona I dovrebbero essere visti almeno ogni settimana fino a quando la normale vascolarizzazione raggiunge la zona III o il rischio di sviluppare la soglia è passato. I neonati che raggiungono la soglia dovrebbero essere sottoposti a terapia ablativa entro 72 ore dalla diagnosi .

La nostra terapia intensiva neonatale, rivedendo le raccomandazioni del Joint Statement dell’American Academy of Pediatrics, dell’American Academy of Ophthalmology e dell’American Association of Pediatric Ophthalmology and Strabismus ha stabilito che la prima visita dello screening deve essere effettuata dopo 1 settimana di età cronologica e comunque non prima delle 29 settimane di EPC ⁸².

In caso di stadio presoglia il controllo va eseguito entro 3-7 giorni; se si riscontra uno stadio soglia deve essere effettuato il trattamento entro 72 ore dalla diagnosi, 48 ore se si tratta di ROP tipo 1, previa conferma da

parte di un altro oftalmologo pediatrico; ancor prima, cioè entro 48 ore dalla diagnosi di ROP di tipo 1, in base a quanto stabilito dall'ETROP ⁷⁸.

L'esame più importante per la diagnosi precoce di una ROP è l'oftalmoscopia indiretta che consente la visualizzazione del fondo oculare. Affinché l'oftalmoscopia venga effettuata correttamente è necessario l'impiego di midriatici. Tuttavia, la pupilla del pretermine di bassa età gestazionale si dilata solo in parte a causa dell'incompleto sviluppo del dilatatore della pupilla, a fronte invece della già buona funzionalità dello sfintere. Per questo motivo è opportuno instillare un collirio ad azione parasimpaticolitica come il ciclopentolato allo 0.2% associato alla Fenilefrina 1% che per la sua azione simpaticomimetica potenzia l'azione midriatica del primo collirio. Generalmente, la modalità di somministrazione è di 1 goccia in entrambi gli occhi ogni 5 minuti per 2 volte ⁸³. In alternativa, si può utilizzare un collirio costituito dall'associazione di Tropicamide 1% e Neosinefrina 2.5% da somministrare 15-20 minuti prima dell'esame nella modalità di 1 goccia per ogni occhio per 1 o 2 volte ad intervalli di 5-15 minuti ⁸³. In ultimo è disponibile anche un'altra associazione rappresentata da Tropicamide 5% e Isonefrina 5% da somministrare 30 minuti prima dell'esame, 1 goccia ogni 10 minuti per 2 volte ⁸³. Il ciclopentolato raramente induce una

tossicità cardiovascolare, ma alla concentrazione dello 0.5% può ridurre fortemente la secrezione degli acidi gastrici predisponendo il neonato ad infezioni enteriche e addirittura ad una enterocolite necrotizzante. La fenilefrina al 10% può causare gravi crisi ipertensive nel prematuro.

Per l'esame, dopo aver applicato il blefarostato, si utilizza l'oftalmoscopio indiretto e una lente di +28 o +30 diottrie che pur avendo una definizione di immagine minore rispetto ad una lente di +20 diottrie permette più agevolmente la visualizzazione della retina più periferica. Si procede ad esaminare il polo posteriore per determinare l'eventuale presenza di un aumento del calibro e della tortuosità dei vasi retinici (plus disease), e successivamente si determina la zona interessata mediante indentazione sclerale. Si stabilisce, infine, lo stadio guardando la giunzione tra retina vascolare e avascolare per 360° in modo da accertare se è presente uno stadio presoglia o soglia ⁸³.

Nel caso in cui non si riesca ad esplorare completamente la retina si può, dopo aver instillato un anestetico locale, manipolare il globo con l'uso di un indentatore sclerale, con i quali mediante una lieve pressione sul fornice si facilita la visione anche delle parti più periferiche della retina

L'uso dell'oftalmoscopio indiretto, è spesso associato all'utilizzo dell'ecografia che permette una migliore valutazione del complesso retina-coroide per la stadiazione e l'estensione della malattia e, negli ultimi tempi, è stato affiancato a quello della RetCam nello screening della ROP. L'introduzione di questo strumento nel follow-up dei bambini pretermine ha consentito non solo l'esecuzione di un accurato esame del fondo oculare, con una sua visualizzazione in tempo reale, ma soprattutto ha fornito la possibilità di studiare le immagini e di standardizzare i criteri diagnostici, riducendo così la normale variabilità di giudizio tra i diversi osservatori ⁸⁴.

Rimane comunque la difficoltà di paragonare le immagini della RetCam con quelle ottenute con le lenti da oftalmoscopia indiretta. Tale problema è molto rilevante poiché lo standard fotografico per la definizione di plus disease, ovvero del criterio fondamentale per stabilire la necessità del trattamento, è una immagine presa con una lente da 20D che ha quindi un fattore di ingrandimento molto maggiore rispetto a quello della RetCam. Tuttavia, tecniche computerizzate per il riconoscimento della tortuosità e della dilatazione vascolare retinica stanno giungendo in aiuto agli oftalmologi pediatrici per rendere sempre più efficace lo screening della ROP ⁸⁴. In tal senso un grande passo avanti è stato fatto con

l'introduzione dell'esame fluorangiografico. Tale metodica ha permesso di valutare con maggiore precisione la condizione di tortuosità vasale e soprattutto ha permesso di evidenziare il leakage di colorante dai neovasi, modificando ulteriormente l'indicazione al trattamento e rimettendo ancora una volta in discussione la classificazione della Retinopatia della Prematurità.

TRATTAMENTO

Quando si parla, oggi, di trattamento della retinopatia della prematurità, indubbiamente si parla di approcci di tipo chirurgico o parachirurgico. Non esiste, infatti, nonostante i progressi delle conoscenze della patogenesi della ROP, una terapia di tipo medico. Inizialmente, è stata utilizzata la vitamina E a dosi elevate, nel tentativo di prevenire la formazione delle “gap junction” nei soggetti con età gestazionale >27 settimane e nel rallentarla in quelli di età gestazionale più bassa, ma i dati di una meta-analisi, derivata dalla combinazione di sette trials clinici randomizzati, non ha mostrato alcun beneficio della vitamina E . Tra l'altro questa vitamina non è priva di rischi quando somministrata a dosi elevate poiché associata ad un'aumentata frequenza di enterocolite necrotizzante e sepsi ⁸⁵.

Inoltre, l'utilità terapeutica degli antiossidanti biologi quali D-penicillamina, bilirubina, superossido dismutasi e perossidasi è tutta da dimostrare.

In questi ultimi anni, in base al ruolo del VEGF e degli altri fattori angiogenetici nella patogenesi della ROP, si è ipotizzata come un'efficace opzione terapeutica di tipo medico, quella rivolta verso il

controllo dell'angiogenesi. Questa terapia molecolare si avvale di anticorpi monoclonali quali Bevacizumab (Avastin), Ranibizumab (Lucentis) e l'oligonucleotide Pegaptanib sodium (Macugen), già approvati dalla FDA, e di terapie ancora in fase sperimentale che agiscono su meccanismi intracellulari come il blocco dei recettori VEGFR-2 con anticorpi anti-recettore, il blocco della Tirosin chinasi e della cascata di segnalazione intracellulare ^{86,87,88}. Il grande vantaggio della terapia medica molecolare è quello di ottenere un arresto dell'evoluzione della patologia, senza alcuna alterazione strutturale e funzionale dell'occhio trattato, al contrario di quanto si verifica nell'ablazione chirurgica della retina avascolare, procedura che, tra l'altro, non ottiene outcome soddisfacenti.

Attualmente, il trattamento della retinopatia del pretermine nella fase acuta, cioè una volta riscontrato uno stadio soglia o presoglia di tipo 1, in conformità a quanto detto nell' ETROP Study, si avvale di una ablazione chirurgica della retina avascolare fino alla giunzione tra la zona vascolare e quella avascolare ^{89,90}.

La distruzione della retina non raggiunta dai vasi retinici ha come scopo quello di impedire la produzione di fattori angiogenici, tra cui

sicuramente spicca il VEGF, che si producono prevalentemente nella retina ipossica e che sono responsabili della proliferazione vascolare.

La distruzione della retina avascolare può avvenire attraverso due tecniche parachirurgiche: la crioterapia e la terapia laser^{91,92}.

I primi tentativi di criotrattamento di una ROP in fase attiva si debbono attribuire a Payne e Patz negli Stati Uniti, seguiti in Canada da Harris e McCormick e da Hindle e Leyton^{93,94,95,96}. In seguito, questo tipo di trattamento si è diffuso in tutto il mondo ed è stato codificato da un Gruppo multicentrico i cui risultati sono stati pubblicati nel 1990 e nel 1993. L'obiettivo di tale trattamento è quello di provocare un'ablazione della retina periferica ischemica fino a ridosso del ridge, delle aree di shunt e di proliferazione fibrovascolare extraretinica, allo scopo di eliminare i siti angiogenetici nella retina immatura. Il trattamento, che può essere eseguito sia in anestesia generale sia -e preferibilmente- in anestesia locale, va effettuata mediante una criosonda da cataratta, la cui temperatura va portata a -60/70°C, sotto controllo oftalmoscopico, allo scopo di ottenere un congelamento di lieve entità per via trans-sclerale che causi nel tempo delle aree di corioretinite adesiva poste anteriormente al ridge. Data l'estrema sottigliezza della sclera del prematuro sono sufficienti 2-3 secondi per apprezzare l'area di

congelamento iniziale; a questo punto il trattamento dell'area va interrotto per evitare danni irreversibili ai tessuti oculari. Particolare attenzione va prestata per evitare che i vasi neoformati vengano interessati direttamente dal trattamento e per eludere una loro possibile lesione con conseguente emorragia endovitrea. Tutta la retina periferica deve essere trattata e non debbono esistere aree di discontinuità tra una cicatrice corioretinica e l'altra. Il numero delle crioapplicazioni per occhio dovrebbe essere di circa 50. Esse dovrebbero essere contigue e non sovrapposte. La sonda crio dovrebbe essere allontanata dall'occhio ad intervalli periodici per permettere la perfusione della retina e del disco ottico. Il trattamento è spesso tecnicamente difficile e richiede tempo, in genere dai 45 minuti ad 1 ora e mezzo. La cornea può opacizzarsi a causa di un eccessivo trattamento crio o di una eccessiva pressione esercitata con il depressore sclerale e questo può prolungare il trattamento ³⁰.

Oggi alla crioterapia ha ormai si fa ricorso solo nel raro caso in cui l'opacità dei mezzi diottrici non consenta di effettuare la terapia con laser (light amplification by stimulated emission of radiation) ⁹⁷. Quest'ultima rappresenta oggi la tecnica di elezione, più semplice ed efficace, attuabile molto spesso direttamente nelle terapie intensive, senza dover trasferire il neonato, con tempi relativamente brevi.

La fotocoagulazione laser ha, dunque, rimpiazzato la crioterapia in molti centri sulla base di studi di meta-analisi che mostravano come la sua efficacia fosse maggiore , sebbene nessun trials randomised è stato condotto sulla scala del Cryo-ROP Study.

Landers e Coll. e McNamara e Coll. hanno introdotto questo tipo di trattamento, che in realtà era stato proposto e attuato già in precedenza, con apparecchiature diverse, da Autori Giapponesi. Dopo l'impiego iniziale dell'argon laser, è stato più recentemente introdotto quello del laser a diodi che si è dimostrato più efficace e meno rischioso soprattutto nei confronti del cristallino, che in alcuni casi si può opacizzare dopo un trattamento con l'argon.

Per il trattamento laser si usa un laser a stato solido duplicato in frequenza, attivato da un diodo (530 nm) o laser a diodi rosso (810 nm), montato su un oftalmoscopio binoculare indiretto. Le potenze usate oscillano tra 150 e 350 milliwatts, i tempi da 0.2-0.5 secondi. Si utilizza una lente asferica da 28 diottrie.

Il numero degli spots è variabile in funzione della focalizzazione ed oscilla fra 500 e 2000 spots per occhio ^{98,99}.

Durante il trattamento dovrebbero essere presenti un neonatologo e un anestesista pediatrico, i neonati dovrebbero essere monitorizzati con

cardiomonitor e con saturimetro. La valutazione del chirurgo e del neonatologo è necessaria per determinare se verrà effettuata l'anestesia locale o generale. La midriasi prima della crioterapia o del laser viene ottenuta utilizzando una soluzione di tropicamide 5% e Isonefrina 5% instillata a partire da mezz'ora prima del trattamento ogni 10 minuti per 3 volte. Se la pupilla non è ancora dilatata al momento del trattamento si può somministrare fenilefrina 2.5% e ciclopentolato 1%. Attenzione va prestata all'assorbimento sistemico di agenti dilatanti (la fenilefrina può causare tachicardia ed ipertensione e gli anticolinergici possono causare ileo paralitico) ⁸³.

Infiammazione delle palpebre ed emorragia sottocongiuntivale possono apparire nelle 48-72 ore successive al trattamento.

Può essere presente edema delle palpebre e perdurare per 5-7 giorni.

Il trattamento postoperatorio include pomate e colliri antibiotici due volte al giorno per 3-5 giorni ¹⁰⁰. Il fondo oculare dovrebbe essere riesaminato dopo 5-7 giorni dal trattamento ¹⁰¹. Se la plus disease è ancora presente, allora la periferia deve essere esaminata per determinare se ci sono o no aree significative non trattate. Se ci sono, allora va applicato il trattamento a tali aree.

Ad 1 settimana di distanza dal trattamento si dovrebbe assistere ad un miglioramento della plus disease che raramente scompare. Può manifestarsi una minima riduzione della neovascolarizzazione, nella zona I può essere presente una torbidità vitreale. Gli spots del laser hanno aspetto biancastro ed edematoso.

A 2 settimane si dovrebbe notare un'ulteriore riduzione della plus disease, minore torbidità vitreale e significativa regressione della neovascolarizzazione retinica. Le aree fotocoagulate assumono un aspetto grigiastro con iniziale pigmentazione ai margini.

A 3-4 settimane dovrebbe essere presente una risoluzione della torbidità vitreale con ulteriore o completa risoluzione della neovascolarizzazione retinica. Le aree fotocoagulate sono ormai una cicatrice pigmentata.

A 6 settimane dovrebbe essere evidente una completa regressione senza trazione vitreoretinica temporale con stiramento maculare.

Possibili complicanze della terapia laser includono la cataratta (1-2% dei pazienti trattati) e l'ischemia del segmento anteriore, legata ad un eccesso di trattamento nei settori nasale e temporale, dove passano i vasi ciliari.

I vari studi multicentrici hanno offerto ragionevoli certezze sul tipo di trattamento da effettuare in caso di ROP acuta. Permangono molti dubbi

su cosa fare nel caso in cui la ROP, nonostante la fotoablazione, non regredisca ma evolva verso lo stadio IV e V ¹⁰².

Per lo stadio IV, rappresentato da un distacco di retina essudativo localizzato, coinvolgente (IVb) o non (IVa) la macula, deve essere accuratamente valutata la possibilità di una insufficiente ablazione, nel qual caso è indicato un “rinforzo” del trattamento.

A più riprese diversi autori hanno anche proposto di associare all’ablazione retinica un cerchiaggio episclerale, dal momento che il distacco di retina è molto spesso prevalentemente trazionale. La tecnica richiede un’elevata manualità e, nella nostra esperienza non modifica di molto il decorso naturale della ROP. Il cerchiaggio episclerale è un trattamento di tipo chirurgico il cui obiettivo è quello di ottenere un riaccollamento della retina evitando la progressione fino allo stato cicatriziale ¹⁰³. L’intervento va eseguito in anestesia generale ed è simile a quello che si pratica nell’adulto. In caso di successo, l’indentazione ottenuta con il cerchiaggio permette nel giro di 3-4 settimane di conseguire il riaccollamento retinico. Poiché la sclera può con facilità andare incontro ad erosioni, la rimozione del cerchiaggio deve essere eseguita entro sei mesi circa dalla sua applicazione; un periodo di tempo

più lungo può anche esporre il bulbo oculare a un grave ritardo dell'accrescimento e a una sua ovalizzazione.

Nei primi anni Novanta, Hirose T. et al hanno indicato come possibile alternativa alla strategia “wait and see”, in quella percentuale di occhi (pari al 14,5%-19,5%) gravati da un “no functional outcome”, la vitrectomia a cielo aperto sebbene ancor oggi i risultati funzionali siano discutibili ¹⁰⁴.

La vitrectomia, intervento di microchirurgia intraoculare, ha, nella esecuzione pratica in questi occhi particolarmente “fragili”, delle notevoli difficoltà e delle importanti differenze rispetto alla vitrectomia nell'adulto quali: l'accesso via pars plicata ad 1-1,5 mm dal limbus corneale e l'uso di aria al posto di olio di silicone come agente tamponante. Dal 1992, il Royal Oak Group, composto da Treese e Mcguire , ha iniziato ad effettuare interventi di vitrectomia con il risparmio della lente oculare (lens sparing vitrectomy)¹⁰⁵. In effetti, l'early vitrectomy effettuata alla 38-42ma settimana di età postconcezionale, ha come scopo la rimozione precoce delle trazioni vitreali, nello stadio IVa, in modo tale da consentire di ottenere un riaccollamento della retina anche solo parziale, preservando la fissazione centrale e la riduzione delle alterazioni cicatriziali del polo posteriore,

quali pieghe o dragging maculare ¹⁰⁶. Per quanto riguarda i casi di ROP stadio IVb e stadio V rappresentati da un distacco di retina prevalentemente trazionale esteso e coinvolgente la macula, in queste forme la proliferazione non è solo vitreale ma si trova sulla superficie retinica. L'obiettivo in questo caso non è solo l'asportazione delle trazioni intravitreali, ma soprattutto la rimozione delle membrane preretiche responsabili della contrazione della retina e della chiusura ad imbuto retinico che caratterizza l'evoluzione verso lo stadio V ¹⁰⁷.

Soprattutto in quest'ultimo caso, ma anche nello stadio IV b, si può avere un coinvolgimento del cristallino e del vitreo retrolenticolare, che obbliga ad una vitrectomia associata a lensectomia ¹⁰⁸. L'utilità della vitrectomia non è priva di controversie, così come si evince dall'analisi degli "outcome" chirurgici, in quanto, a fronte di un successo funzionale molto scarso (15% di "ambulatory vision", ovvero mera percezione delle ombre), si ha un successo anatomico nel 90% dei casi ¹⁰⁶.

SCOPO DELLO STUDIO

Scopo del nostro studio è confrontare i risultati dell'osservazione oftalmoscopica di pazienti nati prematuri e affetti da ROP con i risultati di tecniche di imaging come ecografie ed esame Retcam completato da esame fluorangiografico al fine di perfezionare i criteri di stadiazione e le indicazioni al trattamento della Retinopatia della Prematurità.

Il centro di terapia intensiva neonatale dell'Università degli Studi di Napoli “ Federico II” da anni permette la corretta gestione di bambini prematuri di età gestazionale inferiore alla 30^a settimana e peso alla nascita < 1000g. In collaborazione con la divisione di Oftalmologia pediatrica dell'Azienda Ospedaliera Niguarda Ca'Granda di Milano, che da anni rappresenta un riferimento nazionale per la diagnosi e trattamento di tale patologia, sono stati studiati e trattati dei pazienti prematuri sottoposti alla nostra osservazione quei pazienti affetti da ROP in diversi stadi di malattia.

I bambini afferenti alla Terapia Intensiva Neonatale presentano quadri clinici con vario grado di complessità ed in particolare, dal punto di vista oftalmologico, quasi sempre è presente retinopatia della prematurità in stadi differenti, come evidenziato dai più recenti dati epidemiologici .

Tale condizione patologica, molto spesso, è di difficile diagnosi con la comune oftalmoscopia indiretta, perché le zone di retina da valutare sono in estrema periferia, quindi difficili da osservare, e inoltre le forme meno gravi di questa patologia non sempre presentano le caratteristiche peculiari che i più diffusi testi di oftalmologia descrivono.

MATERIALI E METODI

Nei 22 mesi compresi tra il Gennaio 2007 e l'Ottobre 2008 sono stati sottoposti a visita oculistica 90 pazienti nati prematuri con peso alla nascita ≤ 1250 g ed età gestazionale ≤ 30 w.

Dei pazienti nei quali è stata formulata diagnosi oftalmoscopica di ROP, alcuni, cioè quei pazienti con persistenza tunica vasculosa lentis e un paziente con sospetto di ROP stadio IV, sono stati sottoposti ad esame ecografico mentre altri pazienti, o con tortuosità vasale accentuata o con neovasi periferici, sono stati esaminati tramite esame Retcam completato da esame fluorangiografico. Per eseguire la fluorangiografia vengono iniettati e.v. 0.2 ml di fluoresceina al 10% seguita da 2 ml di soluzione salina isotonica; l'iniezione deve avvenire tramite prolunga e deve essere eseguita lentamente (Immagine 11).

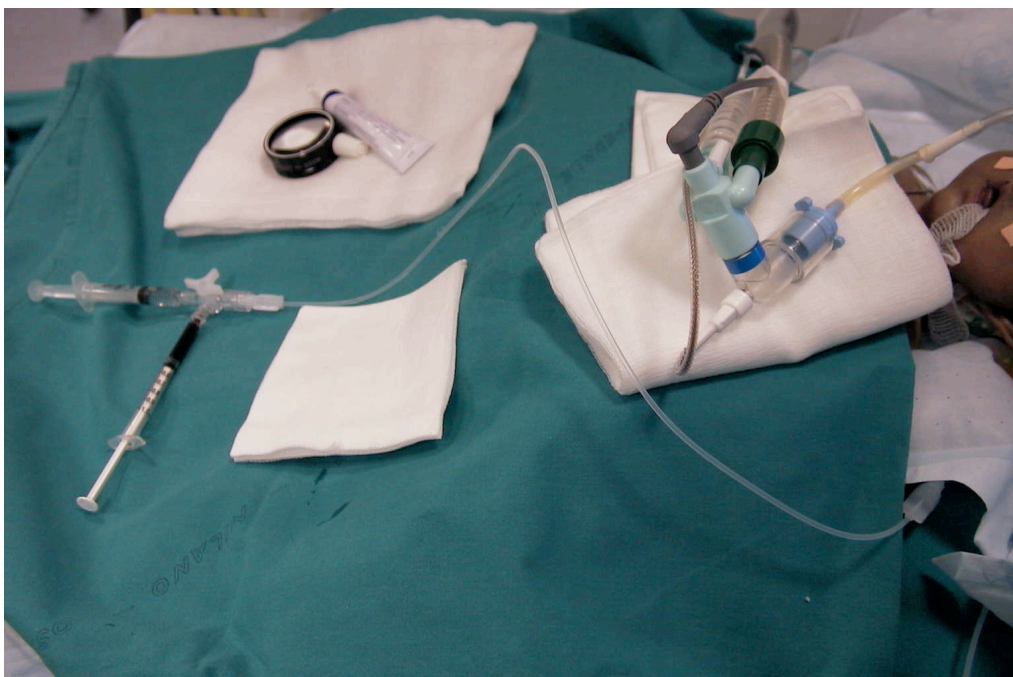


Immagine 11

La lente utilizzata è una lente da 130° con filtro (Immagine 12).



Immagine 12

RISULTATI

In 13 pazienti su 90 è stata posta diagnosi oftalmoscopica di ROP.

Dei 13 pazienti con diagnosi oftalmoscopica di ROP:

- a. 9 presentavano un quadro compatibile con ROP stadio I-II
- b. 4 presentavano un quadro compatibile con ROP stadio III.

In 7 pazienti (5 allo stadio I-II e 2 allo stadio III) dei 13 affetti da malattia è stato effettuato esame ecografico oculare.

In particolare tra questi 7 pazienti sottoposti ad esame ecografico:

- 1) Tra i 5 bambini con segni oftalmoscopici di ROP in stadi I-II, 4 avevano caratteristiche ecografiche retiniche compatibili con il quadro di Retinopatia della prematurità con segni ecografici di congestione vasale a livello coroideale; un neonato dei 5 con segni oftalmoscopici di ROP stadio I al controllo ecografico non presentava segni di ROP e non presentava alterazioni coroideale.
- 2) Dei 2 neonati con segni oftalmoscopici di ROP in stadi più avanzati, l' ecografia oculare confermava la diagnosi per uno dei due pazienti; nel secondo neonato l'osservazione oftalmoscopica era compatibile con il quadro di ROP stadio III, anche se in alcuni settori la retina non appariva perfettamente sul piano,

ponendo il dubbio se si trattasse di ROP stadio IV. In questo paziente l'esame ecografico ha confermato la diagnosi oftalmoscopica di ROP stadio III in quanto la retina appariva perfettamente aderente con quadro ecografico di ROP stadio III.

In 6 pazienti (4 con stadio I-II e 2 con stadio III) è stato effettuato esame Retcam e fluorangiografia. In questo gruppo di 6 pazienti:

- 1) In 2 casi con quadro oftalmoscopico di ROP stadio I-II, l'osservazione con Retcam confermava la diagnosi di malattia in stadio II e l'esame fluorangiografico evidenziava un leakage di colorante in corrispondenza della cresta;
- 2) In 1 caso con quadro oftalmoscopico di ROP stadio II nel settore temporale superiore, l'osservazione con Retcam confermava la diagnosi di malattia in stadio II in tutto il settore temporale con la coesistenza confermata dall'esame fluorangiografico di malattia in stadio I e II nello stesso occhio;
- 3) In 1 caso con quadro oftalmoscopico di ROP stadio I-II, l'osservazione con Retcam e fluorangiografica evidenziavano una ROP in stadio II con plus e ciuffi neovascolari in corrispondenza del ridge;

- 4) In 2 casi con quadro oftalmoscopico di ROP stadio II-III senza segni di plus, l'osservazione con Retcam confermava la diagnosi di malattia in stadio III con plus in corrispondenza del ridge e l'esame fluorangiografico evidenziava un abbondante leakage di colorante in corrispondenza della cresta.

Sono stati sottoposti a trattamento laser coagulativo 5 pazienti.

Tutti i 5 pazienti che sono stati sottoposti a trattamento fotocoagulativo

Laser hanno presentato una regressione della tortuosità vasale.

DISCUSSIONE

Con il miglioramento della gestione dei bambini nati prematuri l'incidenza di ROP ha cominciato ad assumere valori rilevanti, basti pensare che in un neonato di peso alla nascita inferiore ai 750g la probabilità che tale paziente presenti una ROP in uno dei suoi differenti stadi è pari circa al 90%. Tale percentuale scende al 47% nei bambini di peso alla nascita compreso tra i 1000 e i 1250g.

I risultati derivanti dall'osservazione oftalmoscopica concordano con quanto riportato in letteratura circa la frequenza di ROP in tali pazienti, soprattutto per quel che riguarda gli stadi più avanzati di Retinopatia.

Nel corso del nostro studio si è evidenziato che i bambini ad alto rischio di sviluppo di ROP presentano tutti una marcata ipovascolarizzazione della periferia retinica, ma non tutti la netta linea di demarcazione che separa la retina vascolarizzata da quella avascolare, linea di demarcazione che rappresenta il principale criterio diagnostico della ROP negli stadi 1 e 2. Dopo osservazione attenta e minuziosa delle diverse strutture oculari si è arrivati alla conclusione che sarebbe importante

valutare con metodiche di imaging diverse, come l'ecografia (a-scan, b-scan con sonde da 10 e 20 mhz), la Retcam e la fluorangiografia, alcune parti anatomiche difficilmente valutabili con la comune visita oculistica. Infatti, si è osservato in corso di studio che la posizione anatomica della linea di demarcazione dello stadio I e II non sempre è visualizzabile con l'oftalmoscopia indiretta, per cui si corre il rischio di sottostimare la reale prevalenza e incidenza dei quadri meno avanzati di ROP, che sono poi quelli in cui si impone un attento controllo per valutare l'eventuale progressione della malattia verso gli stadi più avanzati e gravi.

In particolare con l'ecografia, le moderne sonde ad alta frequenza da 20 mhz permettono una più precisa valutazione del complesso retina-coroide grazie alla minore attenuazione che gli ultrasuoni, a questa particolare frequenza, subiscono da parte dell'umor acqueo e dell'umor vitreo. Tale tipo di esame, inoltre, permette una valutazione anatomica e strutturale sia della regione maculare, che è la regione della retina deputata alla visione più fine e dettagliata, sia del nervo ottico. In tali pazienti, tali regioni anatomiche, molto spesso, pur presentandosi oftalmoscopicamente indenne, non garantiscono con la crescita del bambino un'eccellente acuità visiva. La valutazione ecografica dei muscoli extra-oculari, inoltre, potrebbe essere utile nei bambini nati

prematuri dal momento che in tali pazienti l'incidenza di alterazioni della motilità oculare è maggiore rispetto ai bambini nati al termine della gravidanza. Uno dei limiti più volte discusso dell'esame ecografico è rappresentato dall'estrema dipendenza dall'operatore.

Per tale motivo ormai da anni, tutti i Centri che si occupano di diagnosi e trattamento della Retinopatia della Prematurità si sono concentrati sulla ricerca di una metodica che potesse inequivocabilmente definire lo stadio della malattia e indicare quindi i criteri di trattamento prescindendo dalla soggettività di interpretazione della risposta.

L'avvento della RETCAM, strumento che permette la visualizzazione del fondo oculare attraverso un sistema di acquisizione ottico con lente da 130° con possibilità di eventuale filtro giallo per fluorangiografia e successiva ricostruzione dell'immagine su pc, ha permesso di superare i limiti intrinseci all'ecografia, cioè la dipendenza dall'operatore. Inoltre, la possibilità di effettuare l'esame fluorangiografico, fino a poco tempo fa neanche ipotizzabile, in questi piccoli pazienti, ha gettato le basi verso una nuova valutazione diagnostica e terapeutica della malattia.

CONCLUSIONI

La retinopatia del prematuro costituisce, secondo i dati riportati in letteratura da Claire Gilbert, la causa di cecità più frequente nei Paesi industrializzati (High income Countries) ed in quelli in via di sviluppo (Middle income Countries). Il ricorso alla fecondazione artificiale con il conseguente aumento di parti plurigemellari e le tecniche di rianimazione neonatale sempre più efficienti determinano la nascita e la sopravvivenza di bambini a peso neonatale ed età gestazionale sempre più basso. Questa situazione modifica profondamente il modo di “lavorare” dell’oculista all’interno della terapia intensiva neonatale. Questi bambini così critici necessitano di controlli molto frequenti e molto precoci a partire dalla 29ma settimana di EPC (Età Post-Concezionale). Mentre fino al 2002 era possibile visitare bambini anche con frequenze solo settimanali, attualmente i bambini più critici necessitano di controllo anche a 48-72 ore; inoltre, il tempo che deve trascorrere tra la diagnosi e l’eventuale trattamento non deve essere superiore alle 48 ore. Tempi così limitati e bambini così critici necessitano di oftalmologi neonatali perfettamente addestrati a questo trattamento. Inoltre, gli sforzi compiuti all’interno delle terapie intensive neonatali devono assolutamente essere seguiti da

adeguati protocolli di follow-up e di riabilitazione visiva in particolare, e neurosensoriale in generale di questi bambini per non rendere vana questa enorme mole di lavoro.

Dal punto di vista più prettamente scientifico la ROP rappresenta un'occasione unica per lo studio dei processi di vasculogenesi ed angiogenesi in vivo e per la comprensione dei meccanismi di sviluppo dell'apparato visivo. L'applicazione di nuove tecnologie di studio della vascolarizzazione con e senza mezzi di contrasto (RetCam con "wide field" fluorangiography) consente di comprendere il ruolo giocato nella formazione della rete vascolare retinica dei processi vasculogenici in zona 1 e angiogenici in zona 2.

Dai risultati riportati in questa tesi, appare evidente come la semplice osservazione oftalmoscopica, seppur unico punto di partenza nell'iter diagnostico della Retinopatia della Prematurità, viene spesso confermata da tutte le moderne tecniche di imaging di ultima generazione; tuttavia studio ecografico, Retcam e fluorangiografia, in alcuni casi, consentono di attribuire alla malattia ROP uno stadio diverso da quello osservato e permettono, comunque, di completare la diagnosi oftalmoscopica riguardo la localizzazione della malattia e con la fluorangiografia

riguardo la presenza eventuale di ciuffi neovascolari non sempre osservabili oftalmoscopicamente per la loro localizzazione periferica.

Tutto ciò assume un'importanza fondamentale nella programmazione del trattamento foto coagulativo.

Pertanto, sia i profondi cambiamenti nella gestione neonatologica dei nati prematuri sia l'introduzione di tecniche di acquisizione di immagine sempre più sofisticate ha imposto una rivisitazione della classificazione della ROP con profonde implicazioni anche nella scelta terapeutica.

La possibilità di diagnosticare una ROP in stadi iniziali, quando l'esame oftalmoscopico non risulti essere sufficiente, e la necessità di inquadrare correttamente le forme più avanzate di ROP coincidono con la possibilità di trattare tale patologia con le metodiche più idonee e garantire risultati funzionali importanti che permettano, se non un'acuità visiva quantitativamente alta, l'adeguato inserimento sociale di questi bambini.

Si capisce quindi come l'ecografia oculare, la RETCAM e la fluorangiografia rappresentano un passo avanti nell'inquadramento di una patologia che nelle sue forme più gravi porta a cecità.

BIBLIOGRAFIA

¹ World Health Organization. Prevention of blindness and deafness. Global initiative for the elimination of avoidable blindness. Geneva: WHO; 2000. WHO document WHO/PBL/97.61 Rev2

² F. Cruciani, E. Lombardo Indagine statistica sulla cecità in Italia negli anni 1994-2000. Considerazioni e tendenze. Oftalmologia Sociale, Anno XXVII, N°2, Aprile-Giugno 2004

³ E. Arnold, A. Branon, E. Kohn. Problemi di adattamento del paziente pediatrico. Cap. 296. In Albert e Jakobiec, principi e pratica di oftalmologia, 1996, 3986-3993

⁴ Blindness and early childhood development, 2nd ed. New York. American Foundation for Blind, 1984

⁵ McCormick AQ Retinopathy of prematurity. Curr Prob Pediatr 7: 3-28, 1977, 12. C. Brandt (traduzione a cura di A. Vielmo, Università degli studi di Firenze) Crescita e sviluppo dei bambini ciechi e con ridotta funzione

visiva. Cap.297, In Albert e Jakobiec, Principi e Pratica di Oftalmologia, 1996;3994-4000

⁶ Apple DJ: New aspects of colobomas and optic nerve anomalies. In Kivlin J. Development abnormalities of the eye. Int. Ophthalmol Clin 24: 109, 1984

⁷ Mizumo K., Takey Y., Sears ML, et al: Leber's congenital amaurosis. Am J Ophthalmol 96: 818, 1978

⁸ Thylefors B. A global initiative for the elimination of avoidable blindness. Am J Ophthalmol 1998;125:90–3.

⁹ Wheatley CM, Dickinson JL, Mackey DA, Craig JE, Sale MM. Retinopathy of prematurity: recent advances in our understanding. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed. 2002 Sep;87(2):F78-82. Review.

¹⁰ Terry TL. Extreme prematurity and fibroblastic overgrowth of persistent vascular sheath behind each crystalline lens. Am J Ophthalmol 1942;25:203-204

¹¹ Terry TL. Fibroblastic overgrowth of persistent tunica vasculosa lentis in premature infants. Arch. Ophtalmol. 1943; 29:54-68

¹² Terry TL. Ocular maldevelopment in extremely premature infants. JAMA 1945; 582-5

¹³ Terry TL. Retroental fibroplasia. J Pediatr 1946; 29:770-3

¹⁴ Owens WC, Owens EV. Retroental fibroplasias in premature infants. II. Studies on the prophylaxis of the disease: the use of alpha-tocopheryl Acetate. Am J Ophthalmol 1949;32:1631-1637

¹⁵ Reese AB, King MJ, Owens WC. A Classification of retroental fibroplasia. Am J Ophthalmol 1953;36:133-136

¹⁶ Zacharias L, Reynolds WE, Chisholm JF Jr, King MJ. The incidence and severity of retroental fibroplasia in relation to possible causative factors. Am J Ophthalmol. 1954 Sep;38(3):317-36

¹⁷ Reese AB. An epitaph for retroental fibroplasia. Am J Ophthalmol. 1955 Aug;40(2):267-9

¹⁸ Campbell K. Intensive oxygen therapy as a possible cause of retroental fibroplasia: a clinical approach. Med J Aust 1951;II:48-50

¹⁹ Patz a, Hoeck LE, De La Cruz E. Studies on the effect of oxygen administration in retrolental fibroplasia.I. Nursing observation. Am J Ophthalmol 1952;35:1248-1252

²⁰ Ashton N, Ward B, Serpell G. Role of oxygen in the genesis of retrolental fibroplasia. Br J Ophthalmol 1953; 43: 513-520

²¹ Asthon N. Donders Lecture 1967. Some aspects of the comparative pathology of oxygen toxicity in the retina. J Ophthalmol 1968; 52: 505

²² Kinsey VE, Jacobus JT, Hemphill FM Retrolental fibroplasia: Cooperative study of retrolental fibroplasia and the use of oxygen. Arch Ophthalmol. 1956;56:481-543

²³ Davies PA Retinopathy of prematurity. Lancet 1992;6: 233-242

²⁴ Bancalari E, Flynn J, Goldberg RN, Bawol R, Cassady J, Schiffman J, Feuer W, Roberts J, Gillings D, Sim E. Transcutaneous oxygen monitoring and retinopathy of prematurity. Adv Exp Med Biol. 1987;220:109-13.

²⁵ Bancalari E, Flynn J, Goldberg RN, et al. Influence of transcutaneous oxygen monitoring on the incidence of retinopathy of prematurity. *Pediatrics* 1987;79:663-66

²⁶ Flynn JT, Bancalari E, Bawol R, Goldberg R, Cassady J, Schiffman J, Feuer W, Roberts J, Gillings D, Sim E, et al. Retinopathy of prematurity. A randomized, prospective trial of transcutaneous oxygen monitoring. *Ophthalmology*. 1987 Jun;94(6):630-8.

²⁷ Bech N, Fledelius HC, Rosenberg T. Retinopathy of prematurity 1974-91. An analysis of the Danish Register for the Visually Impaired. *Acta Ophthalmol Suppl*. 1993;(210):12-5.

²⁸ Gibson DL, Sheps SB, Schechter MT, et al. Retinopathy of prematurity: a new epidemic? *Pediatrics* 1989;83: 486-492

²⁹ Holmstrom G, el Azazi M, Jacobson L, Lennestrand G. A population based, prospective study of the development of ROP in prematurely born children in the Stockolm area of Sweden 1975-89. *Acta Ophthalmol* 1993; Suppl. 210: 16-19

-
- ³⁰ Palmer EA, Flynn JT, Hardy RJ, et al. The Cryotherapy for retinopathy of prematurity cooperative group. Incidence and early course of retinopathy of prematurity. *Ophthalmology* 1991; 98:1628-1640
- ³¹ Saugstad OD. Oxygen and retinopathy of prematurity. *J Perinatol*. 2006 May;26 Suppl 1:S46-50; discussion S63-4. Review.
- ³² Steinkuller PG, Du L, Gilbert C, et al. Childhood blindness. *J AAPOS* 1999;3:26–32.
- ³³ Gilbert C, Rahi J, Eckstein M, et al. Retinopathy of prematurity in middle-income countries. *Lancet* 1997;350:12–4.
- ³⁴ C M Wheatley, J L Dickinson, D A Mackey, J E Craig, M M Sale. Retinopathy of prematurity: recent advances in our understanding *Br J Ophthalmol* 2002;86:696–701
- ³⁵ Clare Gilbert, MD, Alistair Fielder, FRCOphth, Luz Gordillo, MD, Graham Quinn, MD, MSCE, Renato Semiglia, MD, Patricia Visintin, MD, Andrea Zin, MD on behalf of the International NO-ROP Group. Characteristics of Infants With Severe Retinopathy of Prematurity in Countries With Low, Moderate, and High Levels of Development:

Implications for Screening Programs. PEDIATRICS Vol. 115 No. 5 May 2005, pp. e518-e525.

³⁶ Bouzas L, Bauer G, Novali L, Dilger A, Galina L, Falbo J, Diaz Gonzalez L, Manzitti J, Sola A. [Retinopathy of prematurity in the XXI century in a developing country: an emergency that should be resolved] *An Pediatr (Barc)*. 2007 Jun;66(6):551-8.

³⁷ Quinn GE. The 'ideal' management of retinopathy of prematurity. *Eye*. 2005 Oct;19(10):1044-9. Review.

³⁸ G.E. Quinn. ROP and neurodevelopmental disabilities. *British Journal of Ophthalmology*, 2005; 89:1457.

³⁹ Suzanne Hughes, Huijun Yang, Tailoi Chang-Ling. Vascularization of Human Fetal Retina : Roles of vascularization and Angiogenesis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000; 41:1217-1228.

⁴⁰ Michaelson IC. The mode of development of the vascular system of the retina: with some observations on its significance for certain retinal diseases. *Trans Ophthalmol Soc UK* 1948;68:137-80

-
- ⁴¹ Ashton N. Retinal angiogenesis in the human embryo. Br Med Bull 1970;26:103-106
- ⁴² Ashton N. Oxygen and the growth and development of retinal vessels. In vivo e in vitro studies. Am J Ophthalmol 1966;62:412-435
- ⁴³ Napoleone Ferrara, Hans-Peter Gerber and J Le Counter. The biology of VEGF and its receptors. Nature Medicine; 9 (6), June 2003: 669-676.
- ⁴⁴ Plate KH, Brier G, Weich HA, Risau W. Vascular endothelial growth factor is a potent tumor angiogenesis factor in human gliomas in vivo. Nature 1992;359:845-848
- ⁴⁵ Rakesh Jain. Molecular regulation of vessel maturation. Nat Med. 2003 Jun; 9 (6):685-93.
- ⁴⁶ Shweiki D, Itin A, Soffer D, Keshet E. Vascular endothelial growth factor induced by hypoxia may mediate hypoxia-initiated angiogenesis. Nature 1992;359:843-5
- ⁴⁷ Chan-Ling T, Stone J. Degeneration of astrocytes in feline retinopathy of prematurity causes failure of the blood-retinal barrier. Invest Ophthalmol Vi Sci 1992;33:2148

-
- ⁴⁸ Chan-Ling T, Tour S, Hollander H, Stone J. Vascular changes and their mechanisms in the feline model of retinopathy of prematurity. *Invest Ophthalmol Vi Sci* 1992;33:2128
- ⁴⁹ Chan-Ling T, Gock B, Stone J. Supplemental oxygentherapy. Basis for noninvasive treatment of retinopathy of prematurity. *Invest Ophthalmol Vi Sci* 1995;36:1215
- ⁵⁰ Johnson L, Shaffer D, Boggs TR. The premature infant vitamin E deficiency and retrolental fibroplasia. *Am J Clin Nutr* 1974;27(10):1158-117
- ⁵¹ Johnson L, Shaffer D, Quinn GE, et al. Vitamin E supplementation and the retinopathy of prematurity. *Ann NY Acad Sci* 1982;393: 473-494
- ⁵² Kretzer FL, Hittner HM. Human retinal development: relationship to the pathogenesis of retinopathy of prematurity. In “Retinopathy of prematurity. Current concepts and controversies.”1986 B.C. Decker Inc. Toronto. Philadelphia.
- ⁵³ Ben Sira I, Nissenkom I, Kremer I. Retinopathy of prematurity. *Survey of Ophthalmology* 1988;33:1-16

-
- ⁵⁴ Avery GB, Glass P. Retinopathy of prematurity: What causes it? Clin Perinatol 1988;15:917-928
- ⁵⁵ Martin CG, Snider AR, Katz SM, et al. Abnormal cerebral blood flow patterns in preterm infants with a large PDA. J. Pediatr 1982;101 587-593
- ⁵⁶ Wilcox WD, Carrigan TA, Dooley KJ, et al. Range-gated pulsed Doppler ultrasonographic evaluation of carotid arterial blood flow in small preterm infants with patent ductus arteriosus. J Pediatr 1983;102 294-298
- ⁵⁷ Earl T, Gyarmati J, Gaal V, Szabo I. Relationship between Hyperglycemia and Retinopathy of Prematurity in Very Low Birth Weight Infants. Biol Neonate 2005 Sep8; 89: 56-59
- ⁵⁸ Mittal M, Dhanireddy R, Higgins RD. Candida sepsis and association with retinopathy of prematurity. Pediatrics 1998;101:654-657
- ⁵⁹ Daniel E. Noyola, Lisa Bohra, Evelyn A. Passe, Marisol Fernandez, David K. Coats. Association of candidemia and retinopathy of prematurity in Very Low Birthweight Infants. Ophthalmology 2002;109:80-84

⁶⁰ Enrique Villegas Becerril, MD, Rafael Gonzalez Fernández, MD, Francisco Fernández Molina, MD, José Maria Gallardo Galera, MD, Growth Factor Levels and ROP, *Ophthalmology*, 2005, Vol. 112 Issue: 12, pp: 2238.

⁶¹Smith LEH. Pathogenesis of retinopathy of prematurity. *Seminars in Neonatology* 2003; 8:469-473

⁶² Aiello LP, Avery RL, Arrigg PG, et al. Vascular endothelial growth factor in ocular fluid of patients with diabetic retinopathy and other retinal disorders. *N Engl J Med* 1994;331:1480-7

⁶³ Reynaud X, Ronald MH, Fulton A.B. Effect of prior oxygen exposure on the electroretinographic response of infant rats. *Inv Ophthalmol Vis Sci* 1995;36: 2071-2079

⁶⁴ Wolbarsht ML, Landers MB. The rationale of photocoagulation therapy for proliferative diabetic retinopathy: A review and a model. *Ophthalmic Surg* 1980;11:235-245

⁶⁵ Penn JS, Landers S, Tolman BL, Kirby RS. The influence of early PaO₂ fluctuation on the progression of retinopathy of prematurity. Invest Ophthalmol Vis Sci 1995;36:S67

⁶⁶ The STOP-ROP Multicenter Study Group. Supplemental therapeutic oxygen for prethreshold retinopathy of prematurity (STOP-ROP), a randomized, controlled trial. I: Primary outcomes. Pediatrics 2000;105:295-310

⁶⁷ Penn JS, Thum LA, Rhem M, Dell SJ. Effects of oxygen rearing on the electrorretinogram and GF A protein in the rat. Invest Ophthalmol Vis Sci 1988;29(11):1623-1630

⁶⁸ Committee for the Classification of Retinopathy of Prematurity: The International Classification of Retinopathy of Prematurity. Arch Ophthalmol 1984;102:1130-1134

⁶⁹ Committee for the Classification of Retinopathy of Prematurity: The International Classification of Retinopathy of Prematurity. Pediatrics 1984;74:127-133

⁷⁰ Committee for the Classification of Retinopathy of Prematurity: The International Classification of Retinopathy of Prematurity. Br J Ophthalmol 1984;68:690-697

⁷¹ Committee on Classification of the late stages of ROP. An international classification of retinopathy of prematurity II: the classification of retinal detachment. Arch Ophthalmol 1987;107: 906-912

⁷² An International Committee for the Classification of Retinopathy of Prematurity: The International Classification of Retinopathy of Prematurity Revisited. Arch Ophthalmol 2005;123:991-999

⁷³ Myron Yanoff, Jay S. Duker. Trattato di Oftalmologia. Antonio Delfino Editore

⁷⁴ Shaffer DB, Quinn GE, Johnson L. Sequele of arrested mild retinopathy of prematurity. Arch Ophthalmol 1984; 102:373

⁷⁵ William Tasman, MD, Arnall Patz, MD, J. Arch McNamara, MD, Richard S. Kaiser, MD, Michael T. Trese, MD Bradley T. Smith, MD, Retinopathy of Prematurity: The Life of a Lifetime Disease, American Journal of Ophthalmology, 2006; 141:167-174.

⁷⁶ Nissenkorn I, Yassur Y, Mashkowski D, et al. Myopia in premature babies with and without retinopathy of prematurity Brit. J Ophthalmol 1983; 67:170

⁷⁷ Multicenter trial of cryotherapy for retinopathy of prematurity. Preliminary results. Cryotherapy for Retinopathy of Prematurity Cooperative Group. Arch Ophthalmol 1988; 106:471-9.

⁷⁸ Early Treatment for Retinopathy of Prematurity Cooperative Group. Revised indications for the treatment of retinopathy of prematurity: results of the Early Treatment for Retinopathy of Prematurity Randomized Trial. Arch Ophthalmol 2003;121:1684-1694

⁷⁹ American Academy of Pediatrics, American Academy of Ophthalmology, American Association for Pediatric Ophthalmology and Strabismus. Screening examination of premature infants for retinopathy of prematurity. Pediatrics 2001;108:809-811

⁸⁰ Pollock W, Inglesby DV, Cottrell DG, (Untitled letter). Eye 1998;12:1035

⁸¹ Yang MB, Donovan EF, Wagge JR, Race, Gender, and Clinical Risk Index for Babies (CRIB) Score as Predictor of Severe Retinopathy of Prematurity. JAAPOS; 2006 Jun:253-61.

-
- ⁸² Italian Multicentre study on retinopathy of prematurity. The Italian ROP Study Group. Eur J Pediatr. 1997 Dec; 156(12):939-43
- ⁸³ Jack J. Kanski, Ophthalmologia Clinica, Elsevier, Quinta Edizione italiana a cura di R. Brancato e C. Azzolini
- ⁸⁴ Shah PK., Narendran V., Saravanan VR., Raghuram A., Chattopadhyay A., Kashyap M., Screening for retinopathy of prematurity – a comparison between binocular indirect ophthalmoscopy and RetCam 120. Indian J Ophthalmol., 2006 Mar; 54 (1): 35-8.
- ⁸⁵ Muller DPR. Vitamin E Therapy in retinopathy of prematurity. Eye 1992;6:221-5
- ⁸⁶ Hidetaka Noma, MD; Hideharu Funatsu, MD; Hidetoshi Yamashita, MD; Shigehiko Kitano, MD; Hiromu K. Mishima, MD; Sadao Hori, MD . Regulation of Angiogenesis in Diabetic Retinopathy (Possible Balance Between Vascular Endothelial Growth Factor and Endostatin) Arch Ophthalmol. 2002;120:1075-1080.
- ⁸⁷ Muthiah Manoharan, Rna interference and chemically modified small interfering Rnas. Current Opinion in Chemical Biology 2004, 8: 570-579.

⁸⁸ David O. Zamora, Michel H. Davies, Stephen R. Plance, James T. Rosenbaum and Michael R. Powers, Soluble Forms of EphrinB2 and EphB4 Reduce Retinal Neovascularization in a Model of Proliferative Retinopathy, *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, 2005; 46:2175-2182.

⁸⁹ Sternberg PJr, Lopez P, Capone A Jr, Lambert M, Aaberg T, Management of threshold retinopathy of prematurity. *Retina* 2002;12:S60-S63

⁹⁰ Wolbarsht ML, Landers MB. The rationale of photocoagulation therapy for proliferative diabetic retinopathy: A review and a model. *Ophthalmic Surg* 1980;11:235-24

⁹¹ Palmer EA, Flynn JT, Hardy RJ, et al. The Cryotherapy for retinopathy of prematurity cooperative group. Incidence and early course of retinopathy of prematurity. *Ophthalmology* 1991; 98:1628-1640

⁹² Gonzalez Viejo I., Ferrer Novella C., Pueyo Royo V., Mayoral Masana F. Marco Tello A., Rebaje Moises V., Diode laser retinopathy of prematurity: More than a decade of experience. *An Pediatr (Barc.)*, 2006 Apr., 64 (4): 336-40.

-
- ⁹³ Payne JW, Patz A. Treatment of acute proliferative retrolental fibroplasia. *Trans Am Acad Ophthalmol Otolaryngol*, 1972; 76:1234
- ⁹⁴ Harris RG, McCormick AQ. The prophylactic treatment of retrolental fibroplasia. *Mod Probl Ophthalmol* 1977; 18:364
- ⁹⁵ Hindle NW, Leyton J. Prevention of cicatricial retrolental fibroplasia by cryotherapy. *Can J Ophthalmol* 1978;13:27
- ⁹⁶ Hindle NW. Cryotherapy for retinopathy of prematurity: timing of intervention. *Br J Ophthalmol* 1986; 70:269
- ⁹⁷ M. O'Keefe and C. Kirwan, Diode laser versus cryotherapy in treatment of ROP, *British Journal of Ophthalmology*, 2006; 90: 402-403.
- ⁹⁸ Rudolph G., Buhl M., Pietschmann M., Wolf A., Boergen KP., Kampik A., Result Following Diode Laser Treatment in Retinopathy of Prematurity (ROP), *Klin Monatsbl Augenheilkd*, 2006 Jun; 223 (6): 528-533.
- ⁹⁹ Ozieblo-Kupczyk M., Antosiuk R., Bakunowicz-Lazarczyk A., The results of diode laser treatment of retinopathy of prematurity, *Klin Oczna*, 2005; 107 (10-12):620-1.
- ¹⁰⁰ Jack J. Kanski, *Oftalmologia Clinica*, Elsevier, Quinta Edizione italiana a cura di R.Brancato e C. Azzolini

¹⁰¹ E. McLoone, M. O’Keefe, S. McLoone and B. Lanigan, Long term functional and structural outcomes of laser therapy for retinopathy of prematurity, *British Journal of Ophthalmology* 2006; 90: 754-759.

¹⁰² G.F. Kieselbach, A. Ramharter, I. Baldissera and M.T. Kralinger, Laser photocoagulation for retinopathy of prematurity: structural and functional outcome, *Acta Ophthalmologica Scandinavica*, 2006, 84 (1): 21-26.

¹⁰³ Trese MT. Scleral buckling for retinopathy of prematurity. *Ophthalmology* 1994; 101:23

¹⁰⁴ Eller AW, Sang DN, Hirose T, Schepens CL, Albert D, Pathology of retrolental membranes excised by open sky vitrectomy in retinopathy of prematurity. *Trans Pa Acad Ophthalmol Otolaryngol*, 1986; 38(1):374-7.

¹⁰⁵ McGuire AM, Trese MT. lens-sparing vitreoretinal surgery in infants. *Arch ophtal.* 1992; 110:284-6.

¹⁰⁶ Capone A Jr, Trese MT. Lens-sparing vitreous surgery for tractional stage 4A retinopathy of prematurity retinal detachments. *Ophtalmology*. 2001 Nov;108(11):2068-70.
